THÈSES

présentées à la Faculté des Sciences de Toulouse
pour obtenir le grade
de Docteur de l'Université de Toulouse

par
Louis GUYOMARD

Première thèse : Etude morphologique et biologique de Venturia inaequalis et de Venturia pirina

Deuxième thèse : Propositions données par la Faculté

SAINT-BRIEUC
IMPRIMERIE MODERNE, 27, rue Saint-Benoît,
1949

THÈSES

présentées à la Faculté des Sciences de Toulouse
pour obtenir le grade
de Docteur de l'Université de Toulouse

par

Louis GUYOMARD

Première thèse : Etude morphologique et biologique de Venturia inaequalis et de Venturia pirina

Deuxième thèse : Propositions données par la Faculté

SAINT-BRIEUC
IMPRIMERIE MODERNE, 27, rue Saint-Benoît,
1949

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE —:— FACULTÉ DES SCIENCES

PERSONNEL

MM. DUPOUY . . . . . Doyen.
MIGNONAC . . . . . Assesseur.

Honorariat

MM. DELTHEIL . . . . . Recteur Honoraire, Doyen Honoraire.
DOP . . . . . Doyen Honoraire, Professeur Honoraire.
JACOB . . . . . Professeur Honoraire.
DRACH . . . . . Professeur Honoraire.
BOUASSE . . . . . Professeur Honoraire.
SOURISSEAU . . . . . Professeur Honoraire.
CLARENS . . . . . Professeur Honoraire.
CAMICHEL . . . . . Professeur Honoraire.
MENGAUD . . . . . Professeur Honoraire.
BUHL . . . . . Professeur Honoraire.

Professeurs

MM. ROY . . . . . Mécanique Rationnelle et Appliquée, Corresp. de l'Institut.
DELTHEIL . . . . . Calcul Différentiel et Intégral.
VANDEL . . . . . Zoologie.
CATHALA . . . . . Chimie Physique et Electrochimie.
MIGNONAC . . . . . Chimie Générale.
DESPAX . . . . . Zoologie Appliquée et Hydrobiologie.
ESCANDE . . . . . Mécanique des Fluides.
JACQUES . . . . . Mathématiques Générales.
DUPOUY . . . . . Physique.
PICHOT . . . . . Physique.
GAUSSEN . . . . . Botanique.
CASTERAS . . . . . Géologie.
BEDOS . . . . . Chimie.
CHALAUD . . . . . Botanique Agricole.
CAPDECOMME . . . . . Minéralogie.

Professeurs sans chaire

MM. NOUVEL . . . . . Electrotechnique.
DUPIN . . . . . Electrotechnique.
TEISSIER-SOLIER . . . . . Zoologie.
MORQUER . . . . . Botanique.
GALLAIS . . . . . Chimie.

Maîtres de Conférences

MM. RIVALS . . . . . Agriculture.
DIXMIER . . . . . Mathématiques.
CALAS . . . . . Chimie.
N... . . . . Physique.
BLAIZOT . . . . . Physiologie.

Chargé de Cours

M. PALOQUE . . . . . Astronomie.

Chargé de Conférences

M. DURAND . . . . . Astronomie.

Secrétariat

M. ARGILAS . . . . . Secrétaire.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

A Monsieur le Professeur G. CHALAUD

MON MAITRE

Hommage de respectueuse reconnaissance.

HISTORIQUE

La maladie connue de tous les arboriculteurs sous le nom de Tavelure du pommier et du poirier a acquis un développement tel qu'elle constitue aujourd'hui une menace très grave pour nos vergers. On a pensé pendant longtemps que les dégâts ne devenaient sérieux que sur vieux arbres négligés, abandonnés ou dépérissants. Mais la maladie a pris une extension rapide et cause les dégâts les plus importants à tous les arbres, depuis les plus jeunes : égrains de l'année, greffes, scions, jusqu'aux plus âgés, qu'ils soient palissés ou en plein vent, taillés ou en formes libres.

Ce sont les attaques sur fruits principalement qui donnent son importance à la maladie, mais tous les organes des pommiers et des poiriers peuvent être gravement atteints: rameaux, bourgeons, feuilles, fleurs, fruits.

Les champignons responsables sont parasites sous leur forme conidienne :

Fusicladium dendriticum (Wallroth) Fuckel sur le pommier et *Fusicladium pirinum* (Libert) Fuckel sur le poirier.

En plus des graves dégâts qu'ils causent et qui peuvent compromettre la récolte, les *Fusicladium*, par les lésions qu'ils déterminent, ouvrent la voie à des parasites secondaires et, en particulier, à *Nectria ditissima* Tul. (chancre du pommier et du poirier : *Fusarium Willkommii* Lind.) et à *Stromatinia fructigena* Boud. (Rot brun : *Monilia fructigena*).

Par leur forme parfaite, les *Fusicladium* appartiennent aux Sphériacées phocodidymées, du genre *Venturia* (Cesati et de Notaris) Saccardo.

Le genre *Venturia*, d'après la diagnose de Saccardo, se distingue dans le groupe par la présence de quelques soies raides insérées au sommet des cols des périthèces.

Ces champignons présentent dans la nature deux phases biologiques distinctes : l'une parasitaire sur les organes en végétation du pommier et du poirier, l'autre saprophytique ayant pour siège les feuilles mortes hivernant sur le sol.

Pendant longtemps on a pensé qu'il s'agissait de deux organismes différents.

VENTURIA INAEQUALIS (Cooke) Aderhold.

En 1866, déjà, Cooke avait observé la forme parfaite et l'avait dénommée *Sphaerella inaequalis* (Journ of Botany). Mais c'est Aderhold qui, en 1894, a établi les relations entre la forme conidienne et la forme parfaite ; cette dernière fut appelée alors *Venturia chlorospora f. Mali.*

En 1897, Aderhold, revisant l'espèce, donne son nom définitif au champignon : *Venturia inaequalis.*

VENTURIA PIRINA Aderhold.

C'est encore Aderhold qui a rapporté *Fusicladium pirinum* au genre *Venturia* et lui a donné le nom de *Venturia pirina* admis universellement. Il a établi que les périthèces des feuilles mortes expulsent des ascospores qui peuvent redonner la forme conidienne.

Les études concernant ces deux *Venturia* sont assez nombreuses, principalement en Amérique et en Angleterre ; elles abordent des points particuliers de leur morphologie et de leur biologie.

En 1914, Jones entreprit des cultures en vue de l'obtention des périthèces en milieu artificiel, en partant d'ascospores.

En 1917, Fraser étudia le mode d'hivernage de *V. inaequalis* au Canada. En 1922, Miss Curtiss s'occupa particulièrement de l'expulsion des ascospores des deux *Venturia.*

En 1924, les périthèces furent trouvés pour la première fois en Angleterre après un hiver froid, d'après Salmon et Ware.

Keitt et Jones (1925) déterminaient la fréquence des ascospores arrivant au contact des différents organes des pommiers.

Scheiderhan (1925) étudia l'influence de la pluie sur la projection des ascospores de *V. inaequalis* et sur leur pouvoir d'infection.

Wilson également (1927) établit l'influence des divers facteurs du milieu sous la forme ascosporée de *V. inaequalis.* L'expulsion des ascospores a fait l'objet d'observations précises de la part de Jehle et Hunter, en 1928, dans le Maryland. En France, la découverte des périthèces est relativement récente. Cependant, Arnaud, dans son « Traité de Pathologie végétale », signale qu'en France les périthèces sont connus depuis longtemps mais que leur rôle n'a pas été étudié spécialement. Les premières publications datent de 1938 : M. Gaudineau, M. Raucourt et G. Morel ont trouvé des périthèces de *V. inaequalis* aux environs de Bray, dans le Nord, et des périthèces de *V. pirina*, le 22 février, sur feuilles récoltées à Attigny (Ardennes). En même temps, ces auteurs signalent, dès le mois de février, la présence de conidies sur les stromas développés à

l'intérieur des chancres des rameaux de poirier. Ils pensent, dès lors, que la forme parfaite est plus fréquente en France qu'on ne le supposait.

La même année, Schad et Soulié (1938) trouvaient, dans la région du centre, leurs premiers périthèces sur Reinette du Canada et sur arbres issus de semis, à partir du mois de mars. C'est seulement au mois d'avril qu'ils purent observer les asques et les ascospores.

En 1943, Schad publiait les résultats intéressants d'une étude sur la maturité des périthèces, la libération et la dissémination des ascospores, dans le Massif Central. Darpoux, à Bordeaux, a également trouvé des périthèces et a étudié la projection des ascospores à partir de 1940.

Dans sa récente étude sur les *Fusicladium* des Rosacées (1944), Saccas a montré que la forme conidienne revêt une importance capitale dans la conservation du parasite d'une année à l'autre. Par contre, il n'a trouvé qu'un seul périthèce sur feuilles de pommier (variétés américaines) récoltées à Rennes, en novembre 1941. Il en conclut que cette forme saprophytique ne se développe pas régulièrement sur feuilles tombées (page 285).

D'autres études ont été entreprises, un peu dans toutes les régions, dans le but de rechercher la thérapeutique à suivre pour lutter efficacement contre la tavelure. Mais ces études se trouvent en défaut par le seul fait qu'elles ne s'appuient pas sur des connaissances suffisantes de la biologie des parasites.

Il importait, en conséquence, d'une part de tenter de combler les nombreuses lacunes laissées par ces études fragmentaires ne permettant pas de se faire une idée d'ensemble suffisante, d'autre part de redresser des inexactitudes consécutives à des observations trop superficielles et de préciser de nombreux points restés obscurs ou encore controversés. Les études concernant *V. pirina*, en particulier, sont à peu près inexistantes. Il devenait essentiel de dégager la fréquence, puis l'importance de la forme ascosporée dans la région de l'Ouest où les pommiers et les poiriers, situés sous un climat particulièrement favorable au développement des parasites de toutes sortes, paient un si lourd tribut à cette redoutable maladie.

Mes recherches ont porté sur toute la phase saprophytique de *V. inaequalis* et *V. pirina*, afin d'apporter une contribution à leur étude morphologique et biologique.

Elles ont été inspirées par M. G. Chalaud, à l'époque professeur à la Faculté des Sciences de Rennes, ajourd'hui professeur

à la Faculté des Sciences et directeur de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse.

Au cours de mes travaux, il n'a cessé de me prodiguer ses conseils bienveillants et expérimentés et de m'encourager dans les heures de doute. En plus, il a bien voulu revoir entièrement mon manuscrit et me suggérer des remaniements importants.

Je le prie d'agréer mes sentiments de profonde reconnaissance.

Ma gratitude va également à M. H. des Abbayes, Professeur à la Faculté des Sciences de Rennes, Directeur du Laboratoire de Botanique appliquée et de Géobotanique Armoricaine, pour l'accueil si cordial qu'il m'a toujours réservé dans son laboratoire, pour les nombreux conseils qu'il m'a donnés et pour les références bibliographiques qu'il m'a signalées.

Je tiens aussi à exprimer mes remerciements à M. S. Villeret, assistant de Botanique à la Faculté de Rennes, et à son prédécesseur, M. C. Hamant, actuellement chargé de cours à la Faculté de Sciences de Toulouse, pour la cordialité avec laquelle ils m'ont toujours accueilli à leur laboratoire. Enfin, l'expression de ma gratitude va à mon directeur, M. F. Coant, Directeur de l'Ecole Normale d'Instituteurs de St-Brieuc, qui a bien voulu, chaque année, modifier l'emploi du temps de son établissement pour me permettre des déplacements à Rennes chaque fois que mes travaux l'exigeaient.

TECHNIQUES

I. — ETUDE DES PÉRITHÈCES

1° Obtention des périthèces.

Les feuilles sont prélevées au moment de leur chute naturelle, à des dates échelonnées, sur les principales variétés en observation, parmi les plus atteintes de tavelure. Elles sont maintenues dans des conditions différentes : soit en contact avec le sol, dans les conditions naturelles, entassées ou éparpillées (il faut prévoir un dispositif — un grillage très fin par exemple — pour éviter la destruction des feuilles par les vers de terre) soit sur planchettes de bois, empilées les unes sur les autres, soit enfin dans des boîtes en bois de cm. $15 \times 10 \times 3{,}5$, dont le fond est garni d'un lit de terre. Les boîtes et les planchettes ont surtout servi pour étudier les influences de la Température, de l'Humidité et de la Lumière sur la formation, l'évolution et la maturation des périthèces.

2° Etude de la projection des ascospores.

Des grillages recouvrent les feuilles mortes. Au moment de la maturité des périthèces, je dispose sur les grillages, à une distance inférieure à 1 cm. des feuilles, des lames de verre très légèrement vaselinées. Les ascospores projetés viennent se coller contre les lames.

Au laboratoire, j'ai adopté deux méthodes pour provoquer l'émission des ascospores :

a) Des lambeaux de feuilles sont disposés sur de l'ouate maintenue humide, dans une boîte de Pétri. Des lames vaselinées, placées à quelques millimètres au-dessus, recueillent les ascospores.

b) Des lambeaux de feuilles — de 1 à 4 cm² environ — sont immergés dans l'eau pendant 2 à 5 minutes, puis étalés sur buvard légèrement humide. Cette deuxième méthode m'a donné les meilleurs résultats.

II. — CULTURE DES CHAMPIGNONS

1° Milieux de culture.

b) *Milieux liquides :*

eau de pluie,
eau distillée stérilisée,
eau glucosée à 2 %.

b) *Milieux solides :*

Sabouraud épreuve (4 % de glucose),
Gélose sucrée ordinaire (2 % de glucose).

2° Matériel de culture.

Les milieux liquides ont été déposés en gouttes pendantes directement sur lames placées en boîtes de Pétri.

Les milieux solides ont été étalés en couches minces sur lames ou en tubes à essais.

Les ascospores ont été cultivées, en outre, directement sur les divers organes des pommiers et des poiriers : feuilles, fruits, rameaux, en vue d'obtenir leur développement dans les conditions naturelles et de rechercher, en particulier, le mode de pénétration, la durée de l'infection et de l'incubation.

III. — EXAMENS HISTOLOGIQUES

Les techniques sont différentes selon qu'il s'agit de mycélium jeune ou de mycélium âgé.

1° Etude du mycélium jeune.

Les coupes sont passées dans l'hypochlorite de soude pendant 10 min. Puis rinçage au moins 10 min. Elles sont chauffées ensuite dans du Bleu coton lactique (par exemple dans un verre de montre) jusqu'à dégagement de vapeurs. Elles sont alors reprises et montées sur lames dans l'acide lactique, puis chauffées légèrement.

Le mycélium jeune apparaît alors coloré en bleu. Le stroma et les conidiophores restent bruns.

Cette méthode a l'inconvénient de nécessiter plusieurs manipulations toujours préjudiciables à un matériel fragile.

Je lui préfère, pour des examens rapides, l'emploi du Bleu coton au lactophénol qui colore le mycélium jeune à froid, sur des coupes fines.

Après le passage à l'hypochlorite (10 min.) et le rinçage (10 min.), il suffit de monter directement dans une goutte de Bleu coton au lactophénol.

2° Etude du mycélium agé.

Les méthodes précédentes ne donnent aucun résultat lorsqu'on traite des coupes de feuilles mortes, contenant du mycélium brun et des périthèces.

Les parties à couper sont ramollies dans l'eau pendant 1 à 5 minutes selon l'état de la feuille. Elles doivent être légèrement ramollies, mais non complètement détrempées et flasques, sinon les tissus se désagrègent et les coupes se font très mal. (La méthode qui consiste à bouillir le matériel pendant quelques minutes ne donne pas de résultats satisfaisants). Les coupes demandent beaucoup de précautions, surtout lorsqu'elles sont faites dans des feuilles ayant séjourné pendant plusieurs mois sous les intempéries. Elles sont passées dans l'hypochlorite pendant très peu de temps (1 à 5 min. selon l'âge de la feuille). On arrête ce bain au moment précis où les cellules de l'hôte sont complètement éclaircies, tandis que la couleur brune du mycélium et des périthèces n'a été que très peu entamée. (Les cellules de la feuille se décolorent beaucoup plus rapidement que le mycélium.)

On peut alors monter directement dans une goutte d'eau. J'ai fréquemment monté dans une goutte de Bleu coton lactique dont le rôle est uniquement de constiuer un fond bleu sur lequel le mycélium se détache plus nettement et permet une étude plus précise de certains détails.

3° Etude des périthèces.

Pour suivre l'évolution des périthèces avec plus de précision et pour étudier certains détails morphologiques, j'ai dû avoir recours aux coupes en série au microtome automatique. L'inclusion a été faite dans la paraffine après fixation au Nawaschine. Lorsque les coupes fixées sur lames sont déparaffinées, il suffit de les passer dans un bain d'hypochlorite pendant 1 à 2 min. pour pouvoir étudier avec netteté le mycélium et les périthèces. (Lors de ce passage dans l'hypochlorite, les coupes se décollent facilement, il faut manipuler avec prudence.)

L'intérêt de ces coupes en série, en plus qu'elles permettent des observations sur un matériel abondant, réside surtout dans les facilités qu'elles procurent pour suivre le relief des périthèces et pour en connaître tous les détails. Cette méthode a été précieuse pour l'étude des cols, des ostioles et des soies, en particulier.

ÉTUDE MORPHOLOGIQUE

L'étude morphologique de *Venturia pirina* Ad. et de *Venturia inaequalis* Ad. doit comprendre une description des caractères macroscopiques présentés par les périthèces dans les feuilles mortes et une étude approfondie des caractères microscopiques portant sur des coupes transversales et tangentielles. La grande importance qui sera donnée à cette étude microscopique est motivée par deux raisons essentielles : d'abord les grosses lacunes laissées par les études isolées et fragmentaires qui ne permettent pas de se faire une idée précise de la forme parfaite des *Venturia* (les écrits français sont particulièrement pauvres et imprécis à ce sujet), ensuite les nombreuses controverses relevées chez différents auteurs à propos de points particuliers. Afin de présenter ce travail avec plus de clarté et de donner à chacun des *Venturia* son individualité entière, j'ai été conduit à étudier les deux parasites l'un après l'autre, dans chacun des chapitres. Il eut été également intéressant de comparer pas à pas les différentes productions des deux champignons arrivés à leur complet développement, de façon à saisir commodément les détails qui les rapprochent et ceux qui les séparent.

I. - Caractères macroscopiques

Il importe d'abord de rappeler et de souligner les caractères essentiels de l'attaque conidienne sur feuilles vivantes pour mieux comprendre le passage de la vie parasitaire à la vie saprophytique et pour avoir une vue d'ensemble du cycle complet du développement. Il convient en particulier de préciser les dispositions conidiennes qui influencent directement les formations périthéciales.

1. - Sur feuilles de pommier

a) Forme conidienne

Les attaques sur pommier ont lieu depuis le débourrement jusqu'à la chute des feuilles et se manifestent par la formation de taches d'une couleur brun olivâtre caractéristique.

La disposition des taches dépend, pour les premières attaques, de la date des infections. Le 9 mai 1945, j'observais des taches sur une variété précoce située en plein vent dans une région très humide. Ces taches étaient disposées le long de la nervure centrale, de part et d'autre, à la face inférieure. Cette disposition montre que l'infection s'est produite lorsque la feuille était encore enroulée en cornet, soit vers le 20 avril pour la variété considérée. Des coupes faites le 9 mai ont montré la grande activité des conidiophores, en pleine production de conidies.

Tous les ans, au début de mai, j'ai pu refaire les mêmes constatations.

Lorsque les feuilles sont étalées, les attaques peuvent se produire sur les deux faces, les taches ne présentent plus une ordonnance régulière. Elles sont distribuées un peu au hasard, surtout aux endroits où séjourne l'humidité.

Le 1er décembre 1946, un cordon horizontal de la variété Bismark a conservé exceptionnellement ses feuilles (toutes les

autres variétés sont dépouillées complètement). Ce pommier subit une attaque intense, les feuilles sont couvertes soit de grandes taches à la face supérieure, soit d'un revêtement poussiéreux sur de larges places.

Des coupes révèlent que ces taches sont récentes, les conidiophores, jeunes (certains portent leur première conidie) sont en pleine activité. Malgré la date tardive de leur production, les conidies ne présentent aucune anomalie. Elles ont germé dans la proportion de 15 % après 30 heures, dans leur milieu naturel (eau de pluie). Au bout de 24 heures certains hyphes mesuraient 80 % de longueur. (Température moyenne pendant la germination : 16°).

Entre ces dates extrêmes, les invasions du champignon, qui sont strictement sous la dépendance des conditions atmosphériques, connaissent peu d'interruptions. A toute époque on peut observer des taches avec des conidies.

Aspect des taches

Chez le pommier, nous trouvons moins de points d'attaque à la face inférieure qu'à la face supérieure. Les taches peuvent être petites, de 1 à 3-4 mm. de diamètre, et nombreuses, disséminées sur toute la surface foliaire, parfois confluentes.

D'autres atteignent ou dépassent 1 cm. de diamètre. Une hypertrophie des cellules envahies amène des déformations à ces niveaux, déterminant la formation de cloques et des décolorations. Leur évolution est alors différente. Le milieu de la tâche se dessèche par la mort des tissus, prend une teinte grisâtre délimitée par un contour brun rouge. Fréquemment des perforations se produisent à ces emplacements.

Un autre aspect, non moins fréquent, traduit une attaque généralisée : une poussière brun verdâtre, de densité inégale recouvre la surface de la feuille, lui donnant l'aspect d'une fumagine. Quel que soit l'aspect des taches, on constate toujours à la loupe et aussi très souvent à l'œil nu, une disposition fibrillaire, dendritique dans la zone marginale de la tache.

Localisation des taches

Face inférieure de la feuille. — Elles sont surtout alignées de part et d'autre de la nervure centrale (attaques précoces). D'autres taches, estompées, à peine visibles parfois, sont dissimulées dans les poils.

Face supérieure. — La plupart des invasions se trouvent à la face supérieure, produisant des taches placées au hasard ;

beaucoup sont concentrées le long des nervures (celles-ci peuvent être entièrement recouvertes) ou dans les creux de la feuille, là où l'humidité séjourne.

b) Les périthèces

Les périthèces sont visibles à l'œil nu — du moins pour un œil exercé — sur les 2 faces de la feuille morte. Ils sont plus nombreux sur la face exposée à la lumière.

Face supérieure. — L'aspect offert par les taches lors de l'attaque conidienne influence directement la disposition des périthèces dans la feuille morte. Les emplacements de ces taches restent visibles et sont constitués par des zones noires, estompées sur les bords, imprécises. Les périthèces se trouvent principalement dans ces endroits. Ils se présentent sous forme de petits points, légèrement saillants, indépendants les uns des autres.

Ils occupent donc l'emplacement même des attaques d'été, mais aussi ils débordent largement ces taches de sorte qu'une feuille fortement envahie pendant l'été, présente des périthèces sur presque toute son étendue, avec une densité cependant très variable.

Lorsque la feuille subit dans l'arbre une attaque généralisée, (complètement recouverte d'une poussière noire de conidiophores et conidies) les périthèces recouvrent plus tard, de la même façon la feuille entière mais on les trouve surtout concentrés le long des nervures et dans les différentes dépressions du limbe.

Face inférieure. — La face inférieure peut être également complètement recouverte de périthèces. Ceux-ci présentent le même aspect que ceux de la face supérieure, mais ils sont en partie masqués par les poils qui ont persisté pendant l'hiver. Les nervures constituent une trame saillante entre ces points noirs. Sur certaines feuilles on reconnait les limites des taches conidiennes ; les périthèces sont plus denses en ces endroits.

Fig. 1. — *V. inaequalis*. Aspect de la feuille couverte de périthèces, face supérieure, vue à la loupe.

2. – Sur feuilles de poirier

a) Forme conidienne

Les attaques sur feuilles débutent également au débourrement (témoins les nombreuses taches disposées en lignes le long de la nervure médiane, à la face inférieure) et continuent jusqu'à la chute de la feuille.

Contrairement au pommier les taches sont, d'une façon générale, plus fréquentes, plus nombreuses, plus étendues, sur la face inférieure de la feuille que sur la face supérieure. Elles présentent des différences importantes avec celles qui sont décrites sur feuilles de pommier.

Aspect des taches

Face inférieure. — Taches nombreuses, étendues, surtout au début du printemps, pouvant atteindre plusieurs cm².

Au cours de l'été, les invasions sur la face inférieure continuent et les manifestations prennent alors divers aspects : grosses taches disséminées au hasard, petites taches nombreuses parsemant le limbe et même, dans quelques cas, recouvrement total de la surface foliaire. (Ces différences d'aspect caractérisent parfois certaines variétés de poiriers ; exemples : taches étendues sur Doyenné du Comice, taches plus petites et plus nombreuses sur Duchesse d'Angoulême, recouvrement total de Beurré Clairgeau).

Face supérieure. — Les attaques sont également très nombreuses et provoquent les différents aspects signalés pour la face inférieure. Les déformations mentionnées sur feuilles de pommier sont beaucoup plus rares sur poirier. Il en existe cependant et les cloques ainsi obtenues servent de refuge aux pucerons verts (*Aphis piri* Koch) et aux pucerons noirs (*Aphis pirastri*). Ces pucerons secrètent un miellat sur lequel se développe la Fumagine (*Fumago vagans* Pers). L'aspect fibrillaire, dendritique de *Fusicladium dendriticum* n'existe pas chez *F. pirinum*. L'évolution de la tache est également différente. Le

parasite détermine moins fréquemment la mort des tissus, les perforations des feuilles au niveau des attaques ne s'observent que dans des cas exceptionnels.

b) Les périthèces

Les périthèces de *V. pirina* se développent sur les deux faces de la feuille morte, à l'emplacement et tout autour des anciennes taches conidiennes. Il est possible de les repérer à l'œil nu, cependant ils paraissent moins saillants que ceux de *Venturia inaequalis*.

Face supérieure. — L'aspect est un peu différent de celui de *V. inaequalis*. Sur les feuilles mortes de poirier les attaques conidiennes laissent peu de traces et de ce fait il est plus difficile de repérer les périthèces. Ils se présentent sous la forme de petites saillies, plus concentrées aux emplacements des attaques d'été, déterminant ainsi une zone un peu plus foncée que le reste de la feuille. Mais ils se retrouvent un peu partout sur la surface foliaire, petits points noirs qui passent inaperçus. Fréquemment leur densité augmente tout autour de la feuille, dans la zone marginale.

Parfois cependant les taches d'été laissent des traces noirâtres qu'on retrouve au printemps littéralement couvertes de périthèces. Il arrive aussi que ces taches ne présentent aucune formation périthéciale.

Face inférieure. — Les périthèces sont également visibles à la face inférieure malgré le réseau saillant des nervures, et présentent les mêmes caractères.

Il ne faut pas prendre tous les points noirs saillants qui recouvrent la surface des feuilles mortes pour des périthèces de *Venturia*, certains se remarquent particulièrement par leur grosseur et leur coloration noir intense : ce sont des conceptacles de *Fumago vagans* Pers. qui d'ailleurs se développent peu et atteignent rarement la maturité. Ces conceptacles sont garnis de grosses et longues soies noires très différentes de celles qui ornent les ostioles des périthèces de *Venturia*.
des ascopores mûriformes : ils appartiennent au genre *Pleospora*. (Il s'agit vraisemblablement de *Pleospora infectoria* Fuckel.. J'ai pu obtenir la forme conidienne à partir de la germination des ascospores, elle se rattache aux *Alternaria*, *A tenuis* Nees).

On y trouve encore les 2 sortes de conceptacles du parasite qui provoque la Septoriose : les périthèces : *Sphaerella sentina* (Fuckel) Schroeter, de 80 à 120 μ avec leurs ascospores bicel-

lulaires, et les pycnides : *Septoria piricola* Desmazières, qui se développent dans les feuilles vivantes, mais que l'on trouve fréquemment dans les feuilles mortes.

Fréquemment aussi les coupes présentent des stromas sous cuticulaires, les uns du type *Colletotrichum* avec leurs longues soies noires, les autres du type *Glœosporium* avec leurs stérigmates et leurs conidies hyalines.

Fig. 2. — *V. pirina*. Portion de la face inférieure d'une feuille couverte de périthèces, vue à la loupe.

II. - Caractères microscopiques

1. - Le mycélium

A. - Venturia inaequalis

a) Coupes tangentielles

Des différences essentielles existent entre les aspects présentés par les faisceaux mycéliens de la face supérieure et ceux de la face inférieure ; nous envisagerons successivement les 2 cas.

Face supérieure. — Au niveau des taches conidiennes nous constatons le plus souvent une extraordinaire densité des hyphes mycéliens organisés en faisceaux.

La disposition générale de ces faisceaux, leur mode de progression dans la feuille morte, ainsi que leur aspect général reflètent assez fidèlement leur comportement pendant la phase parasitaire. Les filaments mycéliens, d'une singulière irrégularité, sont serrés les uns contre les autres étroitement, se développent conjointement, pour constituer des faisceaux de 10 à 20 hyphes, parfois même davantage, qui cheminent ensemble, sur la face supérieure des cellules épidermiques. D'une ramification à l'autre le faisceau augmente son diamètre qui peut atteindre 100 µ. Il se termine le plus souvent par un grand éventail très étalé. Des ramifications apparaissent, à intervalles rapprochés, alternes ou dichotomiques. Les faisceaux secondaires prennent rapidement la même importance que les premiers, et se ramifient à leur tour suivant le même système. Il en résulte que les différents faisceaux mycéliens progressent toujours en éventail se rencontrent, se superposent, s'enchevêtrent parfois, et couvrent complètement toute la partie supérieure des cellules épidermiques, présentant ainsi une extraordinaire densité mycélienne.

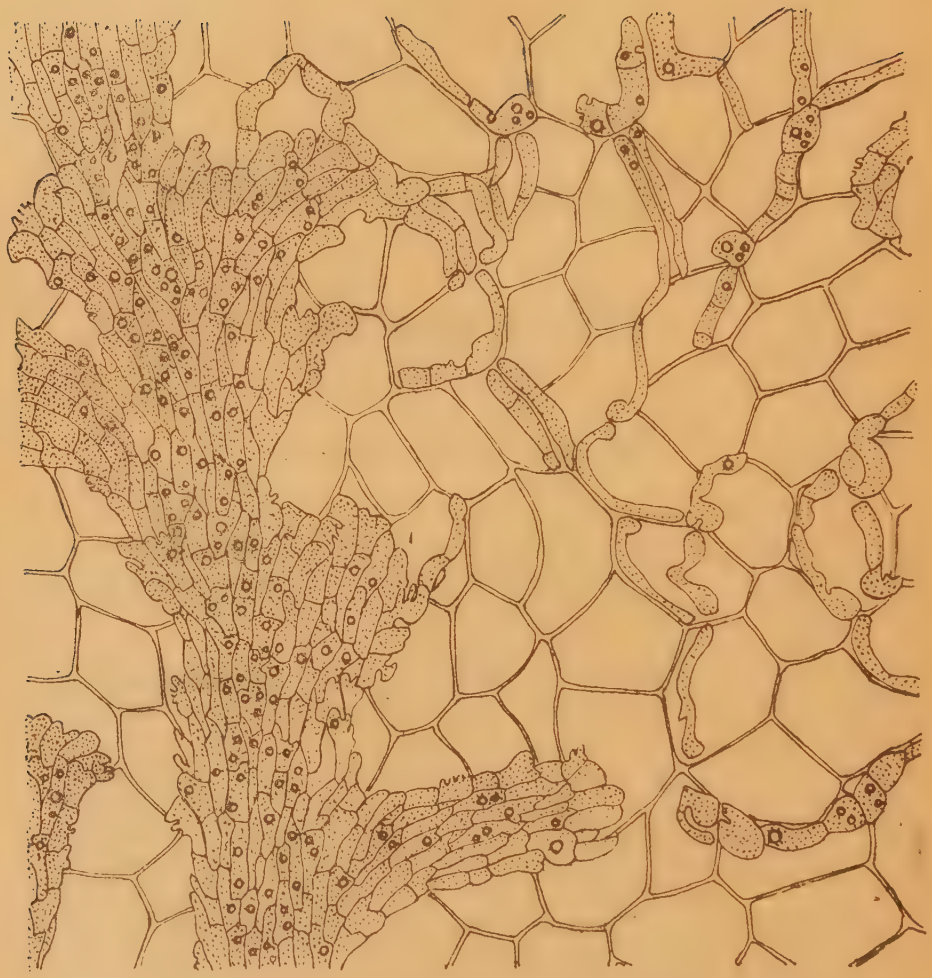


Fig. 3. — *V. inaequalis*. Coupe tangentielle, épiderme supérieur. Faisceau mycélien et hyphes isolés.

Face inférieure. — Pas plus que dans la feuille vivante, le mycélium saprophytique ne couvre l'ostiole des stomates. C'est général. Les beaux faisceaux réguliers décrits à la face supérieure sont désorganisés par la présence des stomates. Il en existe cependant, mais ils sont bien grêles, dépassant rarement 3 à 5 séries d'hyphes, ils progressent sans direction établie, au hasard des espaces laissés libres par l'absence de stomates. Les ramifications se font naturellement comme à la face supérieure,

mais aussi au contact des stomates. Le faisceau au contact des stomates, adopte 2 combinaisons : soit qu'il les contourne par une déviation plus ou moins intense, soit qu'il se divise en dirigeant une branche de part et d'autre. Si un intervalle démuni de stomates se présente, le faisceau a une réaction immédiate, il se développe rapidement dans tous les sens, progresse en éventail et couvre toute la surface. C'est là une preuve que seule la présence des stomates influence la disposition du mycélium à la face inférieure.

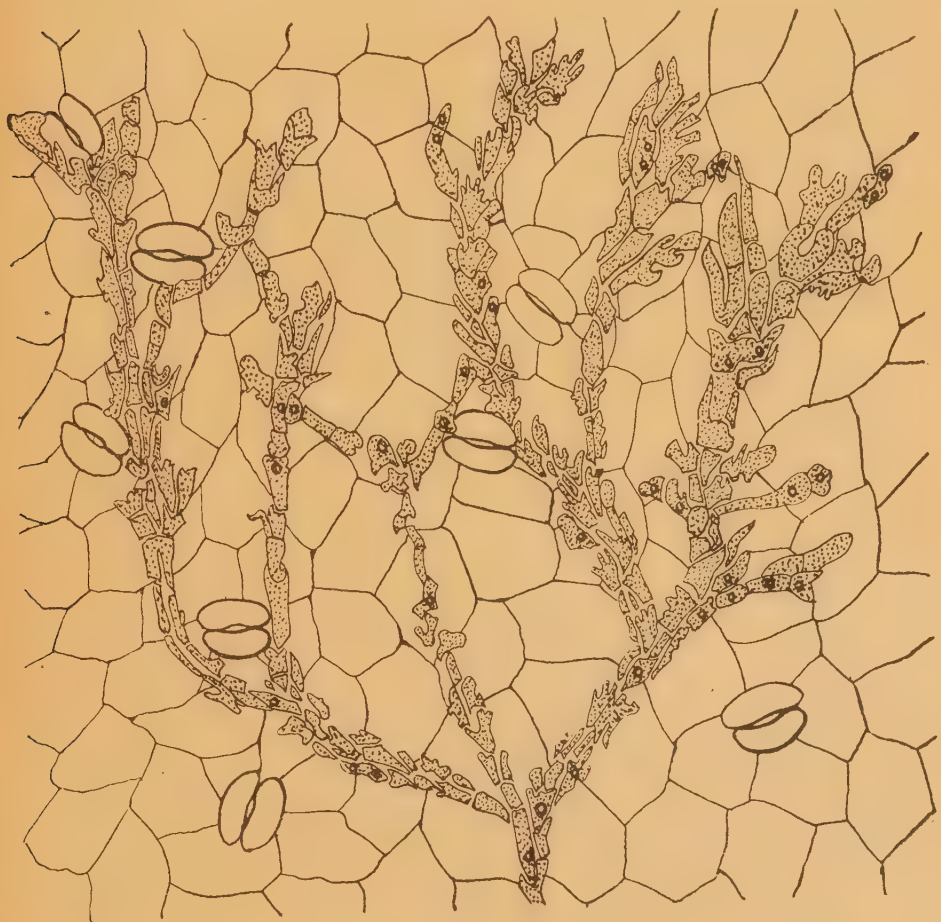


Fig. 4. — *V. inaequalis*. Coupe tangentielle, épiderme inférieur. Morcellement des faisceaux mycéliens au contact des stomates.

En plus de ces faisceaux grêles, des hyphes isolés couvrent toute la surface dans tous les sens, chevauchant les uns sur les autres et présentant les aspects les plus variés. La prolifération mycélienne est quelquefois telle que les stomates sont entièrement recouverts par débordement. Cependant, malgré une intensité remarquable des hyphes, ce cas n'est pas fréquent.

Les hyphes

Les hyphes mycéliens présentent les mêmes caractères en coupes tangentielles sur les 2 faces. Mais l'aspect général est différent selon que les hyphes progressent en faisceaux ou isolément.

L'hyphe des faisceaux mycéliens. — L'hyphe des faisceaux est surtout caractérisé par sa segmentation, son irrégularité et sa division constante. Il se compose d'une file de segments qui semblent distincts les uns des autres et posés bout à bout. Cet agencement provient d'un cloisonnement progressif de l'hyphe primaire et d'un épaississement continu des membranes et des cloisons. Quelques segments, surtout ceux qui sont placés au centre du faisceau, affectent une forme cylindrique régulière. Plus souvent les segments les moins irréguliers s'allongent et présentent des dilatations et des rétrécissements peu accentués. D'autres, très nombreux ont la forme d'un V dont les bras, souvent inégaux et insurvés, séparés par une échancrure, servent de point de départ à de nouveaux segments. Le cas le plus fréquent est constitué par un article un peu allongé, présentant des indentations qui délimitent des lobes de formes et de dimensions variables. Dans la zone périphérique du faisceau mycélien, les indentations sont surtout externes, en forme de portion de lame de scie. Fréquemment l'hyphe se termine par une cellule plus grosse, dilatée en éventail à son sommet et lobée. Une file de tels éléments, qui constituent un hyphe, donne à celui-ci un aspect variqueux, aux multiples formes, souvent fort curieuses. Mais dans la constitution du faisceau nous n'avons pas une juxtaposition d'hyphes à proprement parler, il s'agit plutôt d'un ensemble de segments qui progressent dans le même sens et se divisent sans arrêt. Les ramifications se font par dichotomie (nous n'avons pas ici un hyphe fondamental présentant des systèmes appendiculaires). Un segment se dilate à son sommet, donne 2 ou plusieurs branches qui bourgeonnent autant de nouveaux segments. Ainsi une portion d'hyphes peut donner naissance, par dichotomie continue, à un éventail de plus en plus étendu. Mais les ramifications du faisceau entier ramènent les dimensions de celui-ci à de justes proportions. Avec l'âge, les différents segments s'arrondissent un peu, les

échancrures et les lobes disparaissent, le faisceau entier prend un aspect plus régulier.

L'hyphe isolé. — A la face inférieure il s'agit fort souvent d'hyphes détachés d'un faisceau mycélien au contact d'un stomate. Dans ce cas ils ne diffèrent en rien de ceux qui sont décrits plus haut. Par contre, à la face supérieure de la feuille, et plus rarement à la face inférieure nous trouvons un grand nombre d'hyphes isolés cheminant en tous sens entre les faisceaux. Ils sont beaucoup moins irréguliers que les précédents. Constitués par un cordon de dimensions variables avec des renflements et des rétrécissements, ils progressent en suivant le contour des cellules. Ils empruntent les dépressions intercellulaires et n'émettent que très peu de ramifications. Ces hyphes sont également pluricellulaires, mais les cloisonnements sont parfois très espacés.

Coloration des hyphes. — A son complet développement le mycélium de *V. inaequalis* est brun plus ou moins foncé. Cette couleur est loin d'être uniforme sur une coupe tangentielle où nous notons toute la gamme des nuances entre le hyalin des hyphes jeunes et le brun foncé des hyphes âgés.

La membrane. — Hyaline et fine au début du développement des hyphes, faisant corps pour ainsi dire avec le contenu cytoplasmique, la membrane s'individualise rapidement au cours de la phase saprophytique. Elle s'épaissit, attent 1 μ, devient imperméable aux colorants, et prend une coloration brun foncé parfois presque noire. Elle se décolore moins facilement que les cellules mortes de l'hôte. Cela permet, grâce à une décoloration partielle — qui est presque complète pour les cellules-hôtes — de l'observer avec une grande netteté après passage rapide dans le javel ou l'acide lactique.

Le cloisonnement. — Les hyphes jeunes possèdent des cloisons espacées (jusqu'à 40 μ). De nouveaux cloisonnements apparaissent rapidement et réduisent de plus en plus la longueur de chaque article mycélien. D'abord hyaline et mince, la cloison évolue comme la membrane. Elle s'épaissit et se colore, délimite nettement chaque segment qui finalement s'individualise.

En définitive, par sa forme et sa coloration, par l'épaisseur de sa membrane et le cloisonnement, on peut caractériser un hyphe et le situer dans une phase de son développement.

Tous les hyphes, qu'ils soient jeunes ou âgés, isolés ou en faisceaux peuvent contenir des gouttelettes sphériques réfringentes. Chaque segment peut en posséder une ou plusieurs, de

dimensions variables. Et ces gouttelettes augmentent de volume en vieillissant, certaines remplissent presque complètement les vieux segments.

b) Coupes transversales

Les coupes transversales nous donnent un autre aspect du mycélium de *V. inaequalis*, nouveau par la position des hyphes par leur morphologie et leur mode de progression. Subcuticulaire pendant toute la phase parasitaire, *le champignon pénètre dans le mésophylle peu après la chute de la feuille.* Les nouveaux hyphes prennent naissance dans le stroma ou dans les filaments isolés subcuticulaires, traversant tout le parenchyme foliaire d'un épiderme à l'autre, en empruntant les les espaces intercellulaires.

D'abord fins, ils grossissent peu à peu en vieillissant, changent d'aspect, deviennent légèrement variqueux. Leur allure générale est différente selon qu'ils occupent l'épiderme, le parenchyme palissadique ou le parenchyme lacuneux. Ils progressent toujours isolément.

Le mycélium dans les cellules épidermiques. — Les coupes le présentent dans les 3 sens. La section des faisceaux étudiés en coupes tangentielles montre des gros segments juxtaposés disposés en dômes, ou en lignes continues, placés entre les cellules des tissus palissadiques ou lacuneux et la cuticule.

Ces segments ont une taille très variable, une forme arrondie ou allongée, elliptique, cylindrique, oblongue, irrégulière fréquemment, ils sont souvent serrés les uns contre les autres et aplatis. Le mycélium peut progresser latéralement et se présenter selon sa longueur. Il est identique à un hyphe isolé des faisceaux décrits plus haut. Il peut aussi prendre une direction perpendiculaire à la cuticule, on le retrouve alors dans tout l'intérieur de la feuille.

Le mycélium dans le tissu palissadique. — L'agencement régulier des cellules palissadiques influence directement la disposition générale des hyphes. Ceux-ci demeurent intercellulaires, sauf lorsque les cellules sont désagrégées et progressent en conséquence perpendiculairement à la cuticule. C'est un fait caractéristique, les filaments mycéliens sont, en gros, parallèles entre eux. Cependant, les coupes révèlent des exceptions, des hyphes qui cheminent obliquement par rapport aux épidermes ou parfois même entre les assises de cellules palissadiques.

Mais le mycélium n'offre aucune régularité en dehors de sa direction, il s'y trouve à tous les stades de développement avec les aspects variés dont il sera question plus loin.

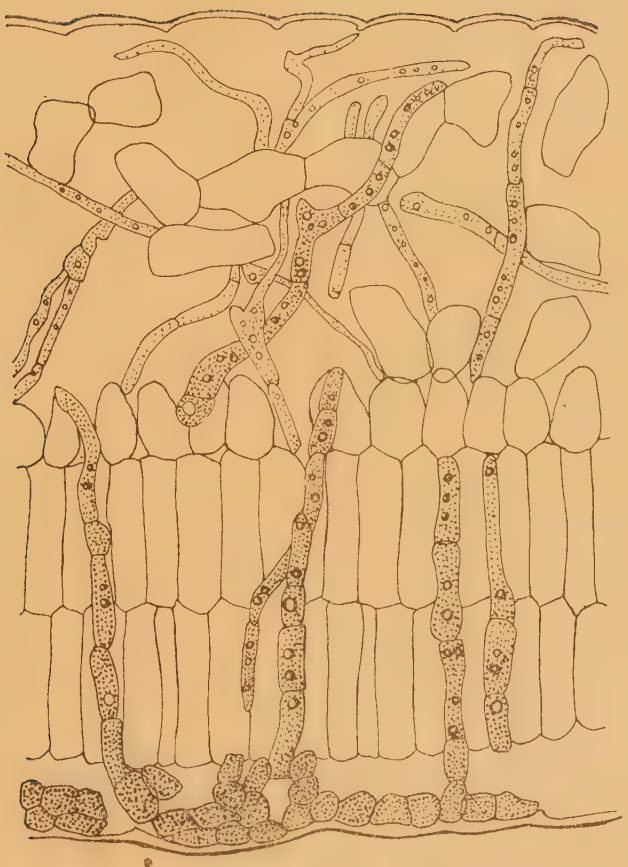


Fig. 5. — *V. inaequalis*. Coupe transversale. Mycélium intercellulaire dans le mésophylle.

Le mycélium dans le tissu lacuneux. — De même que dans le tissu palissadique, le mycélium reste intercellulaire, il progresse en toutes directions, d'une façon désordonnée, entre les cellules et à travers les espaces lacunaires. On le rencontre à tous les stades de développement, cependant les gros segments arrondis sont moins nombreux que dans le tissu palissadique, le mycélium se présente surtout sous forme de filaments fins. Cela s'explique facilement. Les hyphes grossissent avec l'âge pour aboutir à la formation de ces gros segments. Or, les attaques conidiennes sont plus fréquentes à la face supérieure. Celle-ci constitue de ce fait le gros point de départ pour les hyphes mycéliens internes. Dans l'ensemble, par conséquent, le mycélium est plus âgé dans le tissu palissadique.

La position de la feuille sur le sol n'influence pas le développement mycélien interne, les hyphes progressent aussi bien de la face inférieure vers la face supérieure, ou inversement, quel que soit le côté en contact avec le sol.

Densité. — Par rapport à l'extraordinaire développement du mycélium subcuticulaire, les hyphes internes présentent une densité bien faible. Cependant aux emplacements des taches conidiennes, le lacis mycélien peut être abondant ; dans le tissu lacuneux les hyphes s'enchevêtrent fréquemment. En dehors de la zone marginale des taches, nous trouvons encore quelques rares filaments internes, issus du mycélium subcuticulaire ayant progressé latéralement.

Hétérogénéité des hyphes internes. — D'après leur âge, les hyphes internes affectent une morphologie variable. Les *jeunes hyphes* sont constitués par des filaments fins, réguliers, hyalins, peu cloisonnés, aux membranes minces, contenant des séries de petites gouttelettes réfringentes, d'aspect verdâtre, souvent disposées en files. Ces filaments donnent peu à peu des tubes cylindriques plus gros, au cloisonnement plus serré, à la membrane plus épaisse d'une couleur allant du jaune doré au brun clair avec, fréquemment, des rétrécissements au niveau des cloisons.

Les vieux hyphes (après 3 mois de vie saprophytique environ). — Le volume de chaque cellule s'accroît et de nouveaux cloisonnements apparaissent. Le mycélium prend ainsi l'aspect d'une succession de gros segments, plus ou moins arrondis, aux membranes épaisses, brun foncé et contenant une ou plusieurs grosses gouttelettes.

Malgré ces modifications, l'ensemble de l'hyphe conserve des caractères de régularité. Les cellules terminales, qu'il s'agisse de jeunes ou de vieux hyphes, se renflent légèrement et prennent fréquemment une forme ovoïde ou en crochet.

Ramification des hyphes internes. — La progression tangentielle des hyphes sous la cuticule est caractérisée par une division et une ramification constantes, selon un mode particulier. Le mycélium interne ne présente rien de semblable. La plupart des filaments traversent tout le mésophylle sans se ramifier. Quelques-uns cependant présentent une ou, plus rarement, plusieurs ramifications, en particulier à la rencontre d'une cellule abordée de front. Le processus est simple : un utricule apparaît sur le parcours d'un hyphe végétatif et donne rapidement un hyphe secondaire fin qui se développe et progresse isolément dans une nouvelle direction. Cet hyphe acquiert tous les caractères des précédents.

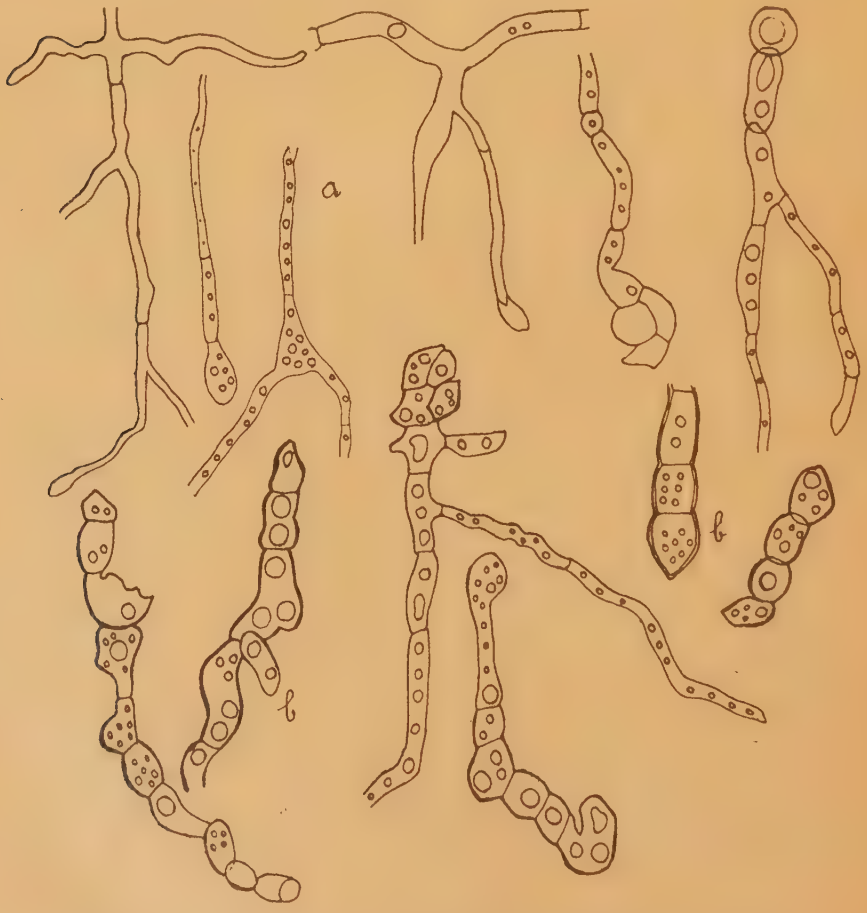


Fig. 6. — *V. inaequalis.* Le mycélium en coupes transversales.
a : mycélium jeune ; b : méyclium âgé.

B. - Venturia pirina

a) Coupes tangentielles

Le Mycélium

Face supérieure. — Des différences essentielles existent entre les aspects mycéliens présentés par les deux parasites, en coupes tangentielles, arrivés au terme de leur développement saprophytique. Tandis que *V. inaequalis* chemine en faisceaux particulièrement larges et épais, envahissants et denses, *V. pirina* dirige ses hyphes, solitaires ou en très petits groupes, dans tous les sens. On ne peut reconsidérer le terme « faisceau » ici, mais plutôt celui de *réseau* mycélien. Ce réseau d'ailleurs n'a subi que peu de modifications depuis la fin de la phase parasitaire du champignon. Nous y trouvons un abondant lacis de filaments ayant conservé l'allure mycélienne typique. L'hyphe est cylindrique, irrégulier, cependant avec de fréquentes dilatations au niveau des ramifications, à mem-

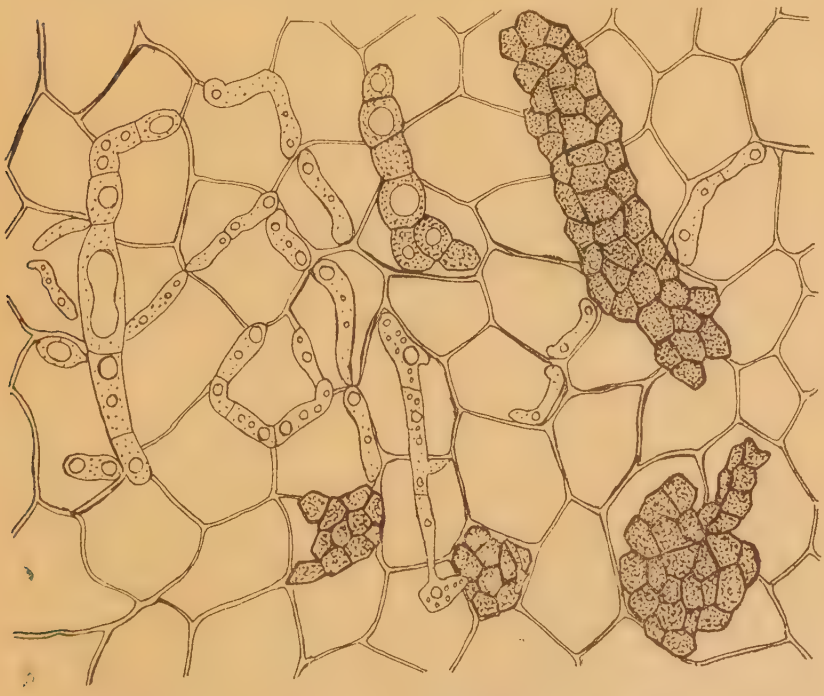


Fig. 7. — *V. pirina.* Coupe tangentielle, face supérieure. Divers aspects du mycélium. Gr. 550.

brane épaisse. L'ensemble est peu dense, distribué au hasard et ne présente aucune continuité. Quelques hyphes peuvent se réunir pour donner des cordons de faible diamètre.

L'attention est vite attirée par le mycélium plus âgé. Il se compose de segments arrondis, paraissant parfois indépendants les uns des autres, de diamètre variable et généralement croissant jusqu'à l'extrémité de l'hyphe.

Ces segments peuvent se réunir pour constituer un enchevêtrement mycélien plutôt qu'un stroma véritable, ayant généralement une forme allongée, ou enroulée en un petit paquet. Chaque cellule hyphale est arrondie ou polyédrique. A ce stade, le sens de la progression est difficile sinon impossible à déterminer. Cependant, les filaments mycéliens empruntent, comme ceux de *V. inaequalis*, les dépressions intercellulaires, bouclant parfois un tour complet autour de la cellule.

Au voisinage des nervures, cette physionomie change : les hyphes longent la nervure, groupés en nombre d'autant plus important que la nervure est grosse, ils suivent celle-ci sans se ramifier, changeant de direction avec elle. C'est la figure la plus régulière de l'organisation mycélienne de *V. pirina*.

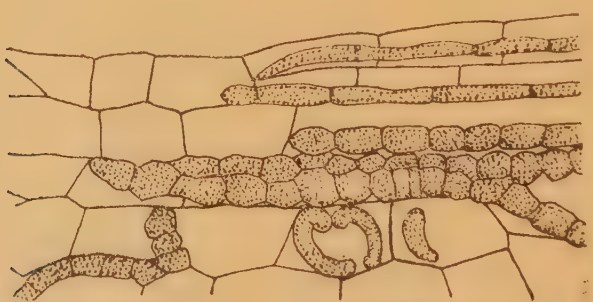


Fig. 8. — *V. pirina*. Régularité du mycélium au contact d'une nervure. Gr. 550

A la face inférieure. — Le schéma précédent subit très peu de modifications. On sait que, pendant la phase parasitaire, le mycélium n'évolue pas au-dessus des ostioles des stomates. Après le redoublement d'activité dans les feuilles mortes, on fait encore la même constatation. Cependant, les exceptions à cette règle sont plus nombreuses. Il n'est pas rare de trouver des stomates complètement recouverts par des segments mycéliens. Malgré cela, en général, le mycélium contourne les stomates quel que soit l'angle sous lequel il les aborde, les

hyphes ainsi déviés présentent encore plus d'irrégularité que ceux de la face supérieure.

Densité du mycélium. — L'absence de faisceaux réguliers et compacts diminue la densité mycélienne de *V. pirina*. Cependant, par endroits, toutes les dépressions intercellulaires sont sillonnées par des hyphes progressant en tous sens. Par transparence on ne peut plus observer les membranes des cellules épidermiques. Elles sont entièrement couvertes et masquées par plusieurs épaisseurs de mycélium qui débordent de chaque côté. Ajoutons à cela l'ensemble des hyphes moins disciplinés qui cheminent au hasard, formant une trame bien serrée, et nous aurons un réseau d'une densité remarquable aux emplacements des fortes attaques. Cette intensité n'atteint jamais cependant celle de *V. inaequalis* dans les mêmes conditions.

Coloration. — Au stade le plus avancé les segments mycéliens sont brun clair et brun foncé. Les hyphes plus jeunes du mycélium évolutif sont plutôt jaunâtres et brunâtres. D'une façon générale l'ensemble est plus brun que chez *V. inaequalis*.

La membrane. — L'évolution se traduit par une accentuation de l'épaisseur et de la couleur. En fin de développement, sur les vieux segments, elle atteint 1 μ.

Sa coloration brun foncé vire parfois au noir.

Le cloisonnement. — De nouvelles cloisons apparaissent au fur et à mesure que le mycélium prend de l'âge. Le jeune hyphe d'infection primaire reste quelque temps unicellulaire, mais bientôt la segmentation commence, le nombre de cellules augmente de plus en plus sur une même longueur. Ces cellules paraissent parfois écrasées les unes contre les autres. La cloison du jeune hyphe est hyaline et fine, celle des vieux segments est brun foncé et épaisse, elle ne se différencie plus guère de la membrane.

Comme chez *V. inaequalis*, des gouttelettes réfringentes ponctuent le mycélium, jeune ou vieux. Dans les cellules jeunes ces gouttelettes sont plus nombreuses et plus petites, dans les cellules âgées les gouttelettes se réunissent le plus souvent et forment une grosse goutte qui emplit presque toute la cellule. Il convient de remarquer que cette goutte n'est pas toujours sphérique, dans les segments allongés elle épouse les formes de la cellule et s'étale en longueur, parfois même elle décrit un angle comme la cellule elle-même.

La comparaison entre les hyphes mycéliens des deux Venturia, en coupes tangentielles, permet de constater que la disposition générale est totalement différente chez ces 2 espèces.

Par contre, si nous prenons isolément un hyphe de *Venturia inaequalis* et un hyphe de *V. pirina, nous devons conclure que malgré quelques variations de faible amplitude, ils se comportent d'une façon identique dans tout leur développement.*

Fig. 9. — Détail de la ramification d'un hyphe. Gr. 550

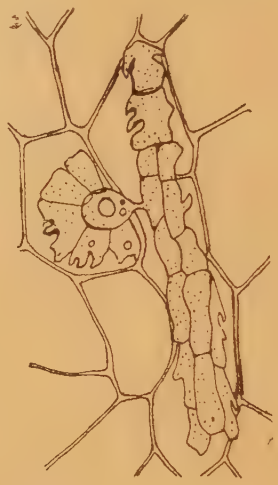


Fig. 10. — Aspect caractéristique du mycélium jeune. Gr. 550

b) Coupes transversales

Pendant la phase parasitaire, le mycélium de *V. pirina* évolue sous la cuticule de la feuille où il circule isolément ou en petits faisceaux peu organisés. Dans la feuille morte nous le trouvons à l'intérieur du mésophylle, dans les parenchymes lacuneux et palissadiques.

Les hyphes sillonnent intensément l'intérieur de la feuille, d'un épiderme à l'autre, aux emplacements des taches conidiennes et dans leur zone marginale.

Cette exubérance du développement mycélien s'atténue peu de la feuille sur le sol et quelle que soit la face attaquée (si liques ou cylindriques-oblongs parfois légèrement polyé- une seule face est attaquée) la disposition interne du mycélium garde le même aspect.

Les coupes tangentielles nous ont montré que les hyphes progressaient principalement dans les dépressions intercellulaires, contournant ainsi les cellules épidermiques. Les coupes

transversales de la feuille, qui nous font paraître le mycélium suivant sa longueur, permettent de faire une constatation analogue. *Le mycélium est surtout intercellulaire.* Ce fait explique les différences d'aspect relevés dans l'épiderme, dans le tissu palissadique et dans le tissu lacuneux.

1° *Le mycélium dans les cellules épidermiques.* — A la fin de l'hiver les épidermes sont généralement désorganisés, les cellules sont désagrégées ou complètement détruites. Le mycélium occupe sans difficulté tout cet espace laissé libre. Les coupes transversales permettent de l'observer dans les trois sens. En section, nous avons de petits segments ronds, elliptiques ou cylindriques – oblongs parfois légèrement polyédriques, groupés en petit nombre ou isolés. Latéralement, les filaments végétatifs ne diffèrent pas de ceux qui ont été décrits pour les coupes tangentielles. Enfin, certains hyphes prennent, depuis la cuticule, une direction nette vers l'intérieur de la feuille.

2° *Le mycélium dans le parenchyme palissadique.* — La régularité des cellules palissadiques influence directement la progression interne du mycélium qui emprunte les intervalles. De telle sorte que le lacis des filaments végétatifs offre dans ce parenchyme un aspect non dénué de régularité, en particulier la direction générale des hyphes reste fidèle à celle de la grande dimension des cellules. Cependant un certain nombre d'hyphes moins bien disciplinés, et surtout de frêles ramifications, s'écartent de cette ordonnance, ils prennent les cellules palissadiques en diagonale, déterminant avec elles des angles

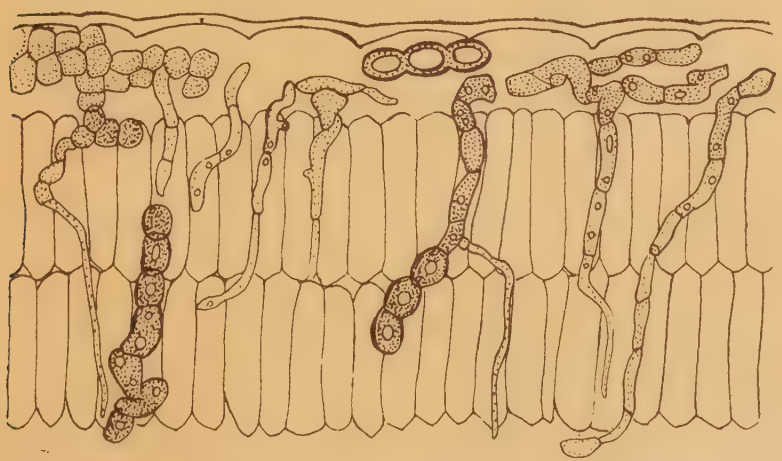


Fig. 11. — *V. pirina.* Progression dans le tissu palissadique à partir de l'épiderme supérieur. Gr. 550

aigus en général faibles. Les changements de direction, beaucoup plus fréquent que pour *V. inaequalis*, s'observent surtout à la séparation des deux assises de cellules palissadiques, il peut même être donné de voir des filaments s'insinuer entre ces deux assises de cellules et progresser ainsi tangentiellement. Le mycélium comporte tous les intermédiaires entre les jeunes filaments grêles et les gros segments arrondis.

3° *Le mycélium dans le parenchyme lacuneux.* — Progression un peu fantaisiste. Le terrain est irrégulier, le mycélium chemine en tous sens, suivant les intervalles intercellulaires, profitant des lacunes. Les hyphes se croisent, se superposent, s'enchevêtrent et offrent une distribution hétérogène. En empruntant un chemin aussi sinueux, ils se dirigent cependant d'un épiderme à l'autre et réalisent rapidement ce trajet.

Le mycélium de progression que l'on rencontre dans chacun des desux parenchymes provient par conséquent des deux épidermes, mais la plus grande abondance est fournie par les hyphes de l'épiderme le plus proche, lorsque la feuille est parasitée sur ses deux faces.

Fig. 12. — *V. pirina*. Mycélium dans le parenchyme lacuneux. Gr. 550.

Mais quel que soit l'emplacement des hyphes dans le mésophylle, leur *densité*, leur *hétérogénéité* et leur *ramification* ne sont guère modifiées.

4° *La densité.* — On remarque une très forte densité mycélienne en coupe transversale au niveau des taches, mais elle n'atteint pas celle des coupes tangentielles. Au delà des zones marginales des attaques d'été on rencontre encore du mycélium interne, clairsemé, qui décèle un retard certain sur les autres

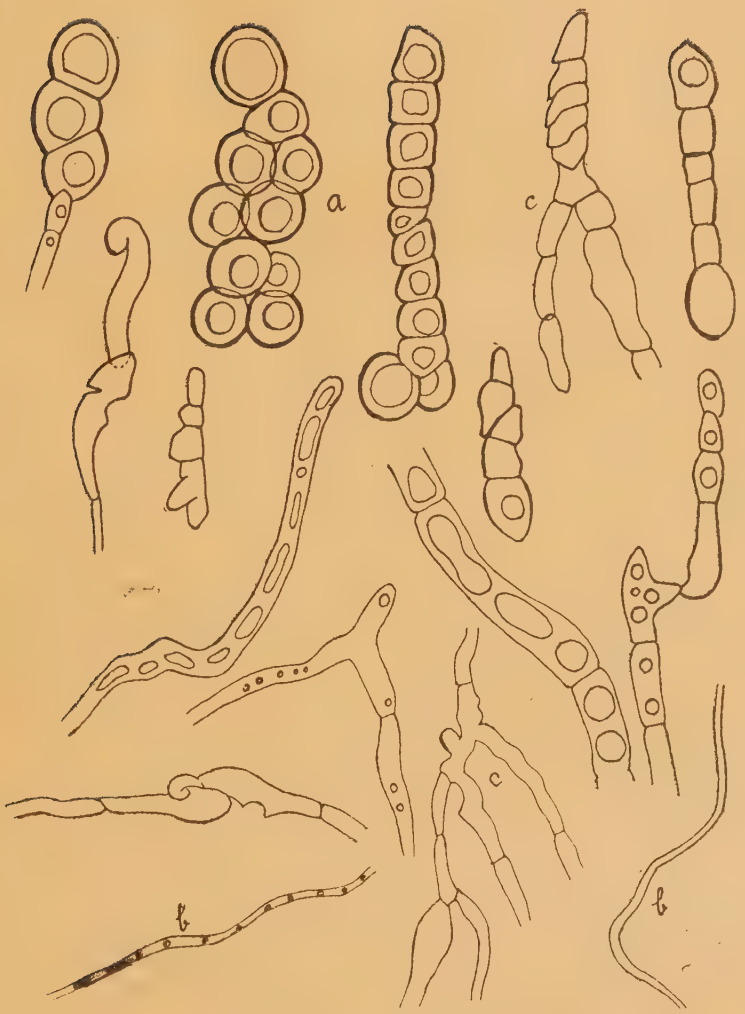


Fig. 13. — *V. pirina*. Différents aspects du mycélium interne relevés dans une seule coupe transversale.
a : mycélium âgé ; b : myc. jeune ; c : ramifications. Gr. 550

hyphes. Il provient de filaments végétatifs qui ont progressé d'abord tangentiellement à partir de la tache conidienne.

5° *Hétérogénité des hyphes internes.* — Le mycélium interne affecte des formes et des dimensions très variées. Nous y trouvons des filaments mycéliens typiques très fins (3 μ), hyalins, cylindriques, aux cloisons espacées à peine décelables et contenant de petites sphérules réfringentes à intervalles réguliers.

Puis, les hyphes grossissent, diamètre moyen : 4 à 7 μ, leur coloration jaune brun les rend faciles à observer. Quelques-uns sont encore cylindriques mais un cloisonnement plus rapproché, le départ de nombreuses ramifications, des dilatations plus ou moins accusées leur donnent un aspect irrégulier. Fréquemment le mycélium se renfle à son extrémité ou présente un crochet caractéristique. Les gouttelettes internes ont pris de grosses dimensions (jusqu'à 5 μ), la plupart ont gardé leur forme sphérique, d'autres sont allongées, cylindriques, un étranglement peu apparaître également en leur milieu.

Au maximum de leur développement, les hyphes ont un aspect tout différent : ils figurent des files de segments très gros pouvant atteindre 17 à 20 μ, souvent moniliformes, mais aussi disposés en paquets allongés quelquefois isolés. Chaque segment affecte une forme plus ou moins sphérique, ainsi que les énormes gouttes réfringentes qu'ils contiennent. Le dernier segment est en général le plus gros. Les membranes et les cloisons très épaisses ont une teinte brun foncé, parfois presque noire. A ce stade, on note une différence bien nette avec *V. inaequalis*.

Le même rameau mycélien peut présenter tous ces aspects à la fois : d'abord filamenteux et fin, puis progressivement plus gros et plus irrégulier, enfin variqueux et moniliforme. En définitive, ce champignon présente, par conséquent, un remarquable polymorphisme.

6° *Ramification des hyphes internes.* — Des ramifications interviennent au cours du développement des hyphes, mais elles ne se généralisent pas comme sur le mycélium subcuticulaire et ne se font pas selon le même processus. Un pore apparaît, le plus souvent sur le côté convexe d'un coude d'un hyphe, qui donne rapidement un petit diverticule, puis un rameau mycélien ayant tous les caractères du mycélium jeune typique. A part quelques exceptions une cellule ne donne qu'une seule ramification. L'angle formé par l'hyphe-mère et le rameau peut mesurer toutes les valeurs, tandis qu'il est toujours faible en coupe tangentielle.

Les plus grandes similitudes existent entre les deux *Venturia* dans leur progression à travers le mésophylle des

feuilles mortes. Cependant, les différents filaments mycéliens de *V. pirina* présentent une plus grande hétérogénéité qui affecte surtout la forme et les dimensions des hyphes ainsi que leur mode de progression toujours plus fantaisiste chez cette espèce.

2. - Les périthèces

A. - Venturia inaequalis

a) Coupes tangentielles

Au petit grossissement, les périthèces se présentent sous forme de petites boules brun foncé, aux contours peu nets, éparpillées sur toute la surface foliaire, fréquemment très abondantes. Le centre du périthèce comprend une couronne de couleur plus foncée, c'est le col dont l'intérieur est ouvert par un ostiole. Le col des périthèces s'orne généralement, à maturité, de quelques soies noires.

Localisation des périthèces. — Les coupes tangentielles permettent de localiser les périthèces par rapport au trajet des cordons mycéliens. Elles nous montrent d'abord que les périthèces sont moins nombreux dans les régions de grande densité mycélienne. Nous en trouvons cependant sur le trajet même des faisceaux et principalement au milieu des palmettes terminales. Plus fréquemment ils sont disposés dans l'angle de bifurcation ou en marge des cordons, menant une vie indépendante par rapport à ceux-ci. Nous notons un plus grand nombre dans les zones peu atteintes, au voisinage d'hyphes isolés. D'autres naissent sur le trajet d'hyphes internes différenciés, croissent dans le mésophylle et n'atteignent souvent la zone subcuticulaire que lorsque leur col se développe vers l'extérieur. Ces périthèces paraissent donc isolés et indépendants du mycélium sur des coupes fines. Leur densité est très variable, elle peut être très grande ; j'en ai noté 28 dans un cercle 200 μ de rayon. Mais cependant, malgré leur pullu-

lation en certains endroits, on constate que le nombre des périthèces reste faible par rapport à l'extraordinaire densité mycélienne pendant la période saprophytique de *V. inaequalis*.

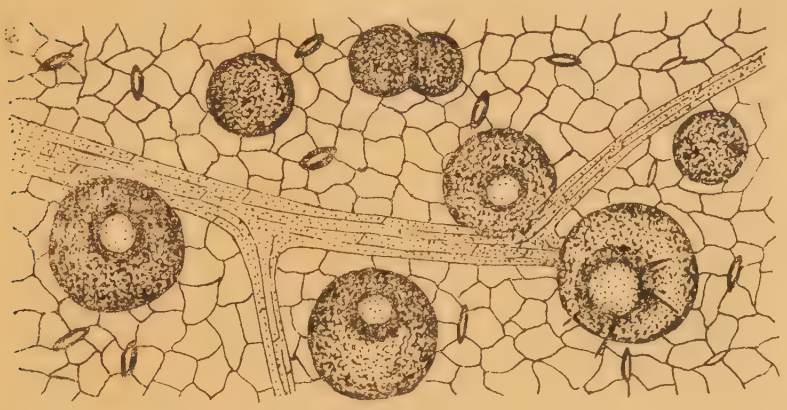


Fig. 14. — *V. inaequalis*. Coupe tangentielle, face inférieure. Gr. 150

Forme et dimensions. — A maturité — comme d'ailleurs pendant tout son développement — le périthèce est globuleux et, très fréquemment, parfaitement sphérique. Sur des lam-

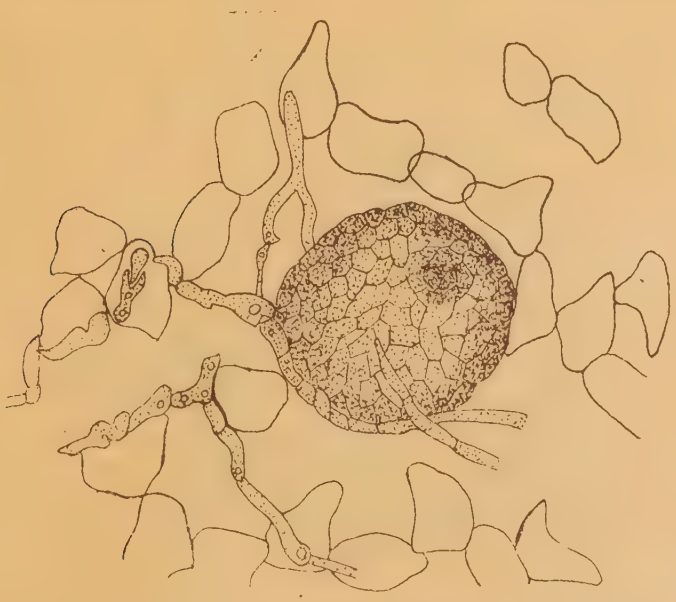


Fig. 15. — *V. inaequalis*. Périthèce jeune en coupe tangentielle. Naissance du col. Gr. 550

beaux de feuilles dilacérés on obtient des périthèces entiers faciles à observer (les coupes ne laissent souvent que des calottes sphériques dont les dimensions sont réduites). Leur masse brun foncé ou noire émerge nettement au-dessus des cellules épidermiques. On ne constate aucune concentration mycélienne particulière dans leur entourage, de sorte que, parfois, ils paraissent isolés et en dehors de la zone attaquée dans la feuille. Les cellules de l'hôte sont bousculées par le développement du conceptacle et s'aplatissent contre sa paroi.

Les dimensions varient dans de fortes proportions, les diamètres sont compris entre 120 et 180 μ ; la plupart font 140 μ de moyenne.

Structure. — Les cellules de l'ascothécium constituent un réseau d'apparence alvéolaire, par leur forme peu irrégulière, polyédrique, et leurs dimensions homogènes. Leur membrane fortement épaissie, à deux enveloppes, tranche par sa coloration noire ; elle se montre réfractaire à toute pénétration de colorants même à chaud. Elle se décolore lentement dans le javel.

Le col apparaît en coupes tangentielles, comme une couronne noire émergeant de la masse globuleuse du périthèce. La coloration foncée permet de fixer nettement son diamètre à la base, soit 60 à 80 μ.

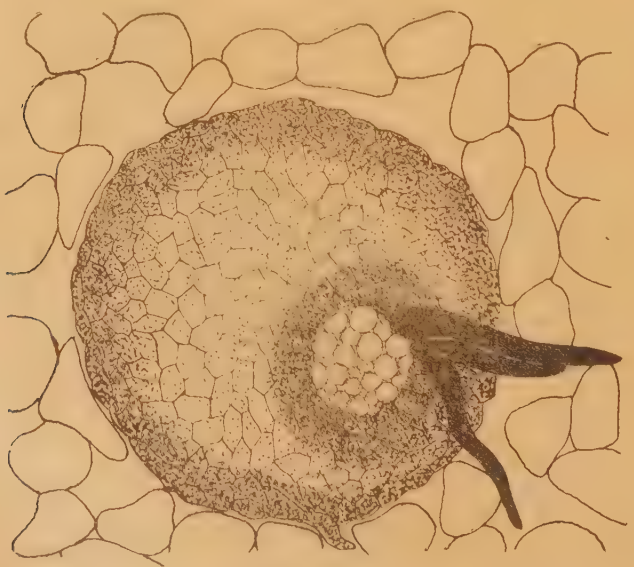


Fig. 16. — *V. inaequalis*. Coupe tangentielle, épiderme inférieur.

L'ostiole jette un peu de lumière dans ces masses noires. De forme circulaire, irrégulière, parfois dentée, l'ostiole est placé au milieu du col. Les dimensions varient en raison directe de celles des cols, et non en fonction du diamètre des périthèces ; les plus gros mesurent 40 μ ; une moyenne semble donnée par 35 μ. L'ensemble du périthèce peut être schématisé par trois cercles concentriques représentant respectivement du plus grand au plus petit la limite de l'ascothécium, la base du col et l'ostiole.

Les soies. — Dans sa diagnose du genre *Venturia*, Saccardo (*Sylloge fungorum*, I, page 587) signale la présence de soies ornant les périthèces. En ce qui concerne *V. inaequalis*, il précise que les périthèces sont couronnés par 3-4 poils perforant l'épiderme. En réalité, sur une coupe, on constate qu'un très grand nombre de périthèces ne possèdent pas de soies. Ces éléments, en effet, apparaissant seulement au moment de la maturation, ne peuvent servir à caractériser que des périthèces contenant asques et ascospores.

Les 2 à 6 soies qui caractérisent les périthèces mûrs de *V. inaequalis* sont souvent disposés du même côté de l'ostiole et sans ordre ; fréquemment aussi elles sont placées par paires ; elles paraissent prendre naissance dans les cellules internes du col et s'écartent par rapport au centre de l'ostiole. Chaque soie comprend un tube à section circulaire, à membrane épaisse et noire, droit ou légèrement courbe, garni à sa base d'un talon plus épais. L'extrémité est légèrement atténuée et se termine par une pointe arrondie. Les longueurs des soies sont variables car leur formation n'a pas lieu simultanément pour un même périthèce, par contre les diamètres ne varient pas avec l'âge.

Dimensions moyennes : longueur : 45-55 μ ; diamètre : 5-6 μ. Ces soies ne sont ni cloisonnées, ni rameuses.

Fig. 17. — Les soies.

b) Coupes transversales

Les périthèces de *V. inaequalis* présentent une localisation particulière en coupes transversales ; ils se situent immédiatement sous la cuticule des deux faces de la feuille, plus nombreux à la face exposée à la lumière.

A maturité, ce sont des masses globuleuses noirâtres qui soulèvent et déchirent la cuticule et émergent légèrement. Contrairement à ce que l'on constate chez *V. pirina*, nous trouvons peu de périthèces dont le développement complet utilise la partie centrale du mésophylle. Presque toujours subsuperficiels, leur localisation sur les deux faces donne à l'ensemble une physionomie régulière. D'autre part, le grand axe passant par leur centre et le milieu du col, se présente, dans la très grande majorité des cas, perpendiculairement à la cuticule.

Les coupes transversales nous permettent de mieux préciser l'échelonnement dans la formation des périthèces de *Venturia inaequalis*. Au début d'avril, la maturité des uns se remarque par leur diamètre, par les asques bourrés d'ascospores aux dimensions définitives et par la présence de quelques soies ornant les cols. En même temps, on peut relever des ébauches, petits tubercules de 30 à 40 µ de diamètre, et tous les intermédiaires possibles entre ceux-ci et ceux-là. Les derniers nés seront d'ailleurs arrêtés dans leur développement, de sorte qu'une coupe transversale nous montre à la fois des périthèces mûrs, des périthèces évolutifs et des périthèces avortés.

Forme, dimensions. — En général, le périthèce est sphérique dans l'ensemble ; sa forme se modifie fréquemment cependant, devient ovoïde, elliptique et le plus souvent piriforme. A ces formes régulières s'ajoutent d'autres, moins fréquentes, sans être exceptionnelles. Différentes circonstances comme la proximité d'une nervure, la présence de cellules intactes de l'hôte, voisinant avec des cellules désagrégées, l'existence d'un deuxième parasite, le rapprochement de deux conceptacles, inhibent la croissance normale du périthèce sur l'un des côtés et déterminent par conséquent des malformations. Les principaux faciès obtenus dans ces conditions sont représentés dans la figure 18. Quel que soit le cas, le périthèce est toujours surmonté d'un col plus ou moins évolué.

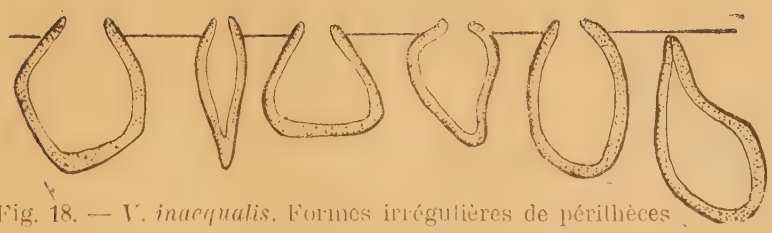


Fig. 18. — *V. inaequalis*. Formes irrégulières de périthèces.

Les dimensions varient dans de fortes proportions, les plus courantes sont 120 à 160 µ × 100 à 120 µ. Mais la gamme des longueurs va de 60 à 160 µ, et celle des largeurs (diamètre transversal) de 60 à 120 µ.

L'Ascothécium

L'enveloppe périthéciale est constituée généralement par deux assises de cellules de recouvrement nettement différenciées. Certains auteurs ont mentionné un épaississement de la membrane qui la porterait à quatre séries de cellules et plus. Il s'agissait vraisemblablement de coupes mal placées dans le périthèce. Il importe en effet que les coupes passent le plus près possible du centre. L'utilisation des coupes fines en séries, au microtome automatique, rend les plus grands services à ce sujet.

L'ascothécium ne comporte d'ailleurs, bien souvent, qu'une seule assise de cellules. Son épaisseur varie dans les limites de 4-12 µ. Cependant dans certains cas on peut observer trois assises de cellules, mais alors les deux séries internes sont plus fines, de sorte que l'épaisseur de l'enveloppe n'est guère modifiée. Les cellules de l'ascothécium sont allongées, peu régulières, aux angles arrondis. Leur membrane peut atteindre 2 µ d'épaisseur du côté externe.

S'il existe deux séries de cellules, les membranes des cellules internes sont toujours plus fines et moins colorées que celles des cellures externes. Leur coloration brun foncé ou marron se confond avec celle des vieux segments mycéliens.

Le périthèce devient généralement piriforme après le développement du col. Celui-ci est d'abord conique, puis tronconique, parfois cylindrique. Ses cellules se distinguent surtout par leur membrane moins épaisse et leur coloration moins foncée. Ce col, par son développement, soulève et rompt la

cuticule. Ses dimensions sont variables suivant la position du périthèce dans la feuille ; base : 40-60 µ, longueur : 20-40 µ.

A maturité des périthèces, le col se pourvoit de quelques soies. Le mode d'insertion de ces soies n'est pas constant, tantôt elles bourgeonnent sur une cellule terminale du col, tantôt elles prennent naissance sur des cellules bien inférieures.

Par leur direction elles s'écartent toujours du centre du col, laissant l'ostiole bien dégagé.

Fig. 19. — *V. inæqualis*. Coupe transvesale d'un périthèce. Remarquer des ascospores jeunes au centre.
S1 : Soie sur la dernière cellule du col. S2 : naissance d'une soie.
a : bouquet de jeunes asques vus par-dessous. Gr. 550.

L'intérieur du périthèce. — Le contenu interne du périthèce comprend les hyphes ascogènes, et les asques avec leurs ascopores.

Les hyphes ascogènes. — Les hyphes ascogènes occupent peu de place au fond du périthèce. Ils sont constitués par des filaments fins et courts, hyalins, colorables par le Bleu coton au lactophénol. Leurs très faibles dimensions les rendent particulièrement difficiles à caractériser. Leur diamètre ne dépasse guère 1,5 µ. On remarque, sur des coupes fines, leurs relations avec les asques qui en sont issus.

Les asques. — A complète maturité, le périthèce est littéralement bourré d'asques pressés les uns contre les autres, épousant toutes les formes, incurvés contre la paroi, rectilignes au centre, parfois tordus. Ils rayonnent dans tout l'intérieur à partir des hyphes ascogènes. Leur formation est échelonnée, de sorte que lorsque les premiers formés mûrissent, les autres figurent les différents stades de leur développement.

L'asque est constitué par un double sac, très peu coloré, ou même hyalin, surmontant un pédicelle court, plus ou moins ventru au quart ou au tiers de sa longueur à partir de sa base.

La partie distale est plus régulière, cylindrique, se terminant par une calotte très aplatie. La partie proximale, renflée, présente des irrégularités fréquentes dues à la disposition des asques et à leur pression sur les parois.

Lors de la maturité, les pédicelles, qui sont très apparents pendant tout le développement des asques, s'atténuent un peu et parfois tendent à disparaître. C'est sans doute cela qui a fait dire à Saccardo que les asques de *V. inaequalis* étaient sessiles. En réalité, les pédicelles sont toujours reconnaissables, au moins au fort grossièrement ; ils peuvent atteindre une longueur de 15 µ. Je n'ai jamais constaté le bourgeonnement d'un deuxième asque à partir d'un pédicelle. Selon leur position dans le périthèce, et suivant les dimensions des périthèces eux-mêmes, les dimensions des asques varient de 40-80 µ pour la longueur et 8-13 µ pour le diamètre. Fréquemment, dans les préparations vitales, on trouve des asques dont la longueur atteint 100 et 120 µ. Il s'agit d'un allongement obtenu assez rapidement par turgescence, stade préliminaire de la projection des ascospores. A ce stade, les ascopores se séparent dans l'asque, ce qui permet une observation plus aisée du double sac. L'externe comprend une membrane fine, hyaline, sans caractère particulier. Le sac interne s'en décolle après absorption d'eau, et se resserre vers le centre de l'asque dans l'inter-

vaille libre entre deux ascospores. Sa membrane est également très fine et hyaline, elle épouse fidèlement le contour des spores. Le double appareil de déhiscence indispensable pour l'ouverture du double sac n'est guère perceptible dans l'asque encore bourré de ses ascospores, tandis qu'il s'observe assez facilement pendant et après la projection des spores.

Fig. 20. — *V. inaequalis*. Asques. Gr. 550

Les ascospores. — Les ascospores de *V. inaequalis* sont disposés dans l'asque suivant leur longueur et sur une seule ligne. Saccardo les a placées sur deux rangées ; en réalité, la disposition sur deux rangs ne s'observe jamais qu'à la partie ventrue des asques et en particulier lorsque ceux-ci sont jeunes. Cependant, comme la longueur totale de l'asque (80 μ) est inférieure à 8 fois la longueur de l'ascospore (14 μ), il existe un chevauchement inévitable d'une spore sur l'autre. L'ascospore présente toujours sa grande cellule aplatie à la partie apicale de l'asque. Cela explique sans doute les différences entre les extrémités distales des asques des deux *Venturia* : aplaties pour *V. inaequalis* et pointues pour *V. pirina* (c'est la longue cellule pointue qui soulève la partie apicale de l'asque chez ce dernier).

L'unique septum divise l'ascospore en deux loges inégales et de formes différentes. La loge supérieure (position dans l'asque) est globuleuse, parfois presque sphérique, ou aplatie et évasée. La loge inférieure s'allonge un peu, elle peut être comparée à un tube cylindrique parfois un peu renflé, coiffé d'une calotte sphérique, son diamètre n'atteint pas en général celui de la loge supérieure.

La couleur brun foncé des membranes tranche nettement sur le jaune crème de la spore parvenue à maturité. Les dimensions des ascospores varient suivant les périthèces et suivant

les asques du même périthèce. Sauf des cas aberrants, elles sont comprises dans les limites suivantes :

Longueur totale : 12-15 μ ;
Longueur de la cellule inférieure : 6-8 μ ;
Longueur de la cellule supérieure : 5-7 μ ;
Diamètre de la cellule supérieure : 4-8 1/2 μ ;
Diamètre de la cellule inférieure : 4-6 1/2 μ.
En gros donc, les ascospores mesurent : 12-15 × 4-8 1/2 μ.

Fig. 21. — Ascopores. Gr. 1.000.

B. - Venturia pirina

a) Coupes tangentielles

Les périthèces de *V. pirina* Ad. figurent de petites masses globuleuses isolées, noires, de forme moins régulière que ceux de *V. inaequalis*, mais d'aspect général identique. Ils sont surmontés d'un anneau noir intense, *le col* qui s'ouvre par un *ostiole* garni de quelques *soies* raides à maturité.

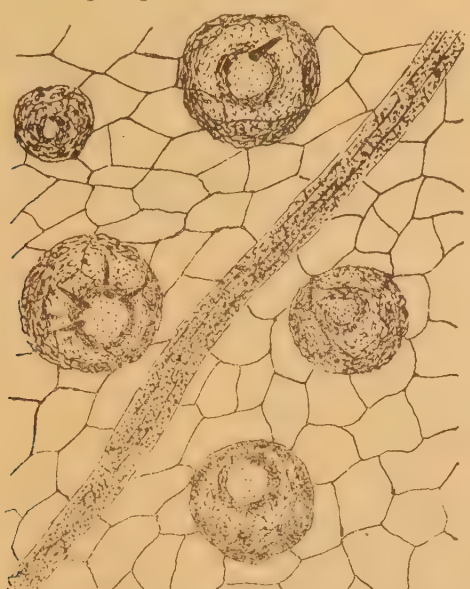


Fig. 22. — *V. pirina*. Aspect des périthèces en coupes tangentielles. Gr. 150

Localisation des périthèces. — Ils semblent distribués au hasard, sur le trajet des hyphes du réseau mycélien subcuticulaire. Très fréquemment, d'ailleurs, l'origine du périthèce est interne. Celui-ci, au cours de son développement, soulève l'épiderme et se trouve ainsi en contact avec le mycélium superficiel avec lequel pourtant il n'a aucune relation. Lorsque les hyphes progressent en cordons, les périthèces peuvent se développer sur leur trajet ou dans leur voisinage immédiat. Nous pouvons renouveler ici la remarque faite à propos de *V. inaequalis* : les zones de très forte densité mycélienne ne présentent pas la plus forte proportion de périthèces. D'autre part, le nombre des périthèces sur une surface foliaire fortement attaquée paraît faible par rapport à l'exubérance du mycélium. La plus grande densité fut 20 périthèces dans un cercle de 360 μ de rayon.

Forme et dimensions. — Les périthèces sont globuleux, mais fréquemment irréguliers. Tandis que la plupart acquièrent une forme sphérique, d'autres s'allongent, s'étirent dans un sens. L'aspect général est peu homogène. Les cellules de l'épiderme — lorsqu'elles persistent — soulevées et repoussées par le développement du périthèce, se déforment, s'aplatissent, se serrent les unes contre les autres. Les dimensions des périthèces parvenus à maturité varient, en coupes tangentielles, de 120-180 μ de diamètre ; la moyenne 120-140 μ est la plus courante.

Le périthèce de *V. pirina* est constitué extérieurement de cellules polyédriques ou arrondies, irrégulières, aux membranes noires et nettement délimitées, de 8 μ de large environ. Une zone plus sombre marque l'emplacement du *col.* Celui-ci se présente sous forme d'une couronne noire au sommet du périthèce, son diamètre extérieur varie de 60 à 80 μ.

L'ostiole. — Il occupe le centre du col. Il s'ouvre sur l'extérieur, déterminant une zone claire au milieu de la masse sombre du périthèce. Son diamètre maximum, à maturité du périthèce, est compris entre 40 et 50 μ. Son contour toujours un peu irrégulier et flou tend vers une forme circulaire.

L'ostiole découvre la partie apicale des asques, petites masses arrondies, hyalines, serrées les unes contre les autres.

Les soies. — Le col se pourvoit, à la maturité du périthèce, d'un petit nombre de soies, dressées de part et d'autre de l'ostiole. Ces soies sont nettement visibles grâce à la couleur noire intense de leur membrane. Leur disposition ne présente aucune régularité autour de l'ostiole, parfois elles ornent un seul côté, pressées les unes contre les autres, mais conservant parfaitement leur individualité ; d'autres fois elles sont placées

diamétralement en 2 ou 3 petits paquets. Elles sont toujours inclinées vers l'extérieur de façon à dégager l'ostiole. Leur nombre varie de 1 à 6 (1 périthèce en a présenté 8).

Chaque soie se compose d'un tube atténué à son sommet et portant à sa base un talon oblique. La longueur dépend de leur âge, et comme leur formation n'est pas simultanée pour un même périthèce, leurs dimensions ne sont pas uniformes. Au maximum de leur développement elles atteignent 60 μ de long et 6 μ de diamètre à la base. Elles ne sont jamais cloisonnées ni ramifiées. La présence de soies autour de l'ostiole des périthèces de *V. pirina* ne constitue pas un caractère absolument constant ; beaucoup de périthèces parviennent à maturité et expulsent leurs ascospores sans avoir jamais possédé de soies. Mais le plus souvent, lorsque les soies existent le périthèce est mûr, il peut expulser ses ascospores s'il est suffisamment mouillé, et les ascospores sont capables de germer.

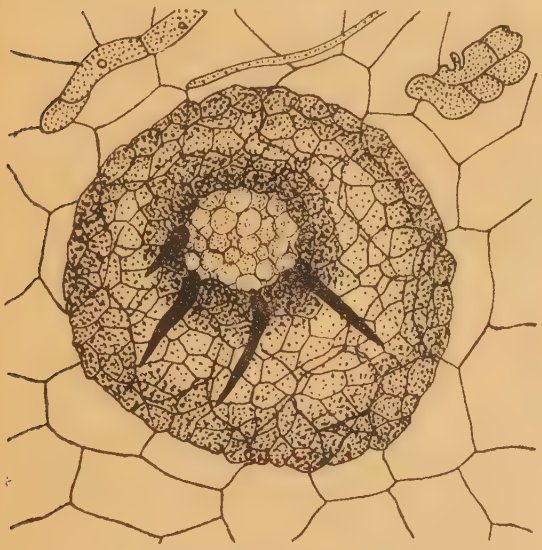


Fig. 23. — *V. pirina*. Périthèce complet. L'ostiole laisse voir la partie apicale des asques. Gr. 550.

Les soies.

b) Coupes transversales

Les périthèces de *V. pirina* sont à l'origine complètement inclus à l'intérieur de la feuille morte. En cours d'évolution, ils soulèvent l'épiderme qui se rompt pour laisser émerger légèrement le col. Le périthèce, à ce moment, se trouve en contact avec l'extérieur par son ostiole.

Dès sa naissance il peut se localiser sous l'épiderme qu'il repousse en se développant. Mais fréquemment aussi il demeure complètement interne pendant toute son évolution, ne modifiant nullement l'intervalle entre les 2 cuticules, ce n'est qu'à l'approche de la maturité que son col, plus ou moins long selon les besoins, le mettra en communication avec l'extérieur. Il n'y a donc pas une localisation spéciale des périthèces de *V. pirina*, qui peuvent être subsuperficiels ou complètement internes. Le plus souvent, le grand axe du périthèce — passant par le milieu du col et le centre du périthèce — est perpendiculaire à la cuticule mais assez fréquemment aussi c'est suivant une oblique plus ou moins accentuée qu'il l'aborde.

La plupart des coupes de feuilles mortes hébergeant le champignon nous permettent de constater que tous les périthèces ne se trouvent pas éparpillés tout à fait au hasard. Le plus grand nombre en effet, et les plus évolués en fin de saison, occupent une face de la feuille, celle qui se trouvait à la lumière, tandis que l'autre face n'en possède qu'un nombre plus restreint, et que l'intérieur en est presque dépourvu. Ce schéma général supporte peu de variations. Il résulte de l action de la lumière sur la localisation des périthèces.

Sphérique depuis sa formation, le périthèce s'allonge lors de sa poussée vers l'extérieur. De globuleux il devient légèrement ovoïde, parfois même elliptique, puis piriforme. Assez fréquemment d'ailleurs, serré contre une nervure ou coincé entre des cellules qui résistent à la pression, il ne peut s'arrondir et dégager sa forme normale. Il présente alors des déformations plus ou moins accusées.

Les dimensions ne sont guère plus constantes que sa position dans la feuille ou sa forme. Sa longueur totale extérieure, col compris, varie entre 160 et 200 μ, et sa largeur entre 128 et 176 μ (ces chiffres s'entendent pour des périthèces dont les asques et ascospores sont mûrs). Il n'existe pas de rapport constant entre la longueur et la largeur, cette dernière d'ailleurs peut être la plus grande.

L'ascothécium. — L'enveloppe ascothéciale comprend chez *V. pirina* une ou deux assises de cellules qui délimitent nettement le périthèce à l'intérieur de la feuille. (Les observations doivent porter sur des coupes fines passant par l'axe médian du périthèce, j'ai utilisé principalement des coupes en série faites au microtome automatique, de 6 à 8 μ d'épaisseur.) Elle offre peu de régularité dans son ensemble par la disposition des cellules et par son épaisseur. Celle-ci subit de grandes variations, de 4 à 12 μ. Le plus souvent la partie basale du périthèce, sur laquelle repose l'appareil ascogène, comporte deux assises de cellules plus volumineuses ; la partie apicale moins nettement délimitée est formée de cellules plus jeunes, de plus faibles dimensions et de coloration atténuée. Les

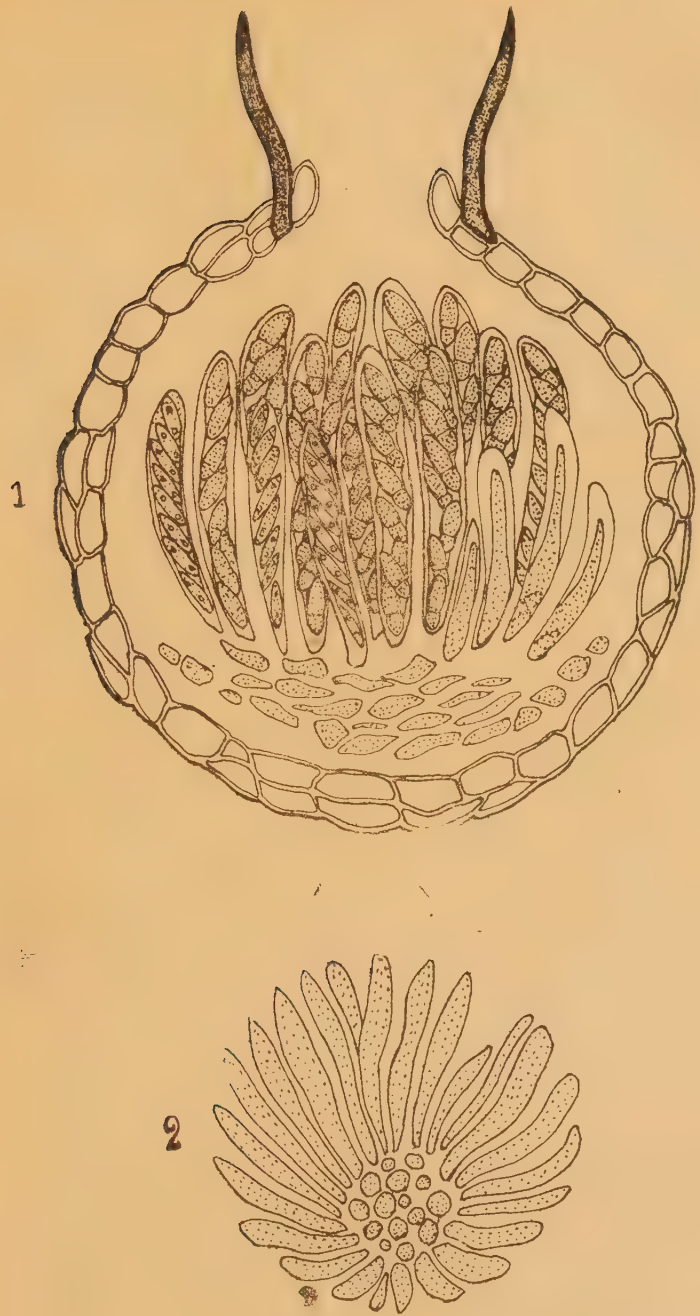


Fig. 24. — *V. pirina*. 1. Coupe transversale d'un périthèce, montrant des asques à différents stades de leur évolution.
2. Disposition des asques à partir de la zone hyméniale. Gr. 550.

cellules de l'ascothécium sont caractérisées par leur forme allongée (jusqu'à 12 µ) et surtout par l'épaisseur de leur membrane qui peut atteindre 1,5 µ. De plus, leur coloration brun foncé intense les rapproche des vieux segments mycéliens.

Le col et l'ostiole. — Surmontant et prolongeant le périthèce, le col, de forme tronconique ou à peine évasée, permet la communication du contenu interne avec l'extérieur. Ses cellules, dérivant d'une nouvelle activité de l'ascothécium, se colorent légèrement par le Bleu coton lactique ou le Bleu coton au lactophénol, indice de leur jeunesse. Les soies sont insérées dans la paroi du col et se dressent en s'écartant de son axe longitudinal. Ces soies ne s'observent pas toujours en coupes transversales car lors des manipulations elles se détachent facilement.

La longueur du col dépend étroitement de la position du périthèce à l'intérieur de la feuille. Elle est comprise entre 24 et 72 µ, son diamètre à la base mesure de 40 à 60 µ. Le col émerge de quelque 10 µ seulement. L'ostiole constitue à l'intérieur du col un vide cylindrique dans lequel se presse l'extrémité des asques mûrs.

Les asques. — A maturité les asques remplissent tout l'intérieur du périthèce, pressés les uns contre les autres. Utilisant tous les espaces, ils s'incurvent à la périphérie pour épouser la forme de la couche interne, tandis que ceux du milieu se dressent directement vers l'ostiole. Ce qui frappe tout d'abord, c'est le manque d'homogénéité de ces enveloppes sporales. En effet, avant maturité complète les asques d'un même périthèce se trouvent à tous les stades évolutifs ; lors de la maturité des premiers formés, d'autres sont à l'état d'ébauche, tandis que tous les intermédiaires peuvent être observés. La zone hyméniale s'étend peu, à partir de la base du périthèce, de sorte que les asques sont particulièrement serrés à cet endroit ; vers le centre ils s'épanouissent un peu, ceux de la périphérie décrivent une courbe et tendent toujours à s'insinuer le plus directement possible vers l'ostiole, déterminant ainsi un chevauchement inévitable.

L'asque est constitué par un double sac allongé fréquemment ventru à sa base, sessile ou très légèrement pédicellé. Sa forme, à complet développement, offre assez de régularité ; elle s'enfle en général jusqu'au tiers de sa longueur, puis s'atténue peu à peu jusqu'à sommet. Ceux qui s'incurvent, par suite de leur position dans le périthèce, présentent leur plus gros diamètre autour de la courbe. L'extrémité de l'asque tendue par la grande loge de la dernière spore, se termine en pointe, parfois un peu arrondie. Lorsqu'un court pédicelle existe, il prend la forme d'une petit cylindre, de diamètre inférieur à celui des spores.

Les dimensions des asques subissent des variations assez notables pour un même périthèce, et surtout importantes pour des périthèces différents. Ces différences s'expliquent par la position de l'asque à l'intérieur du fruit et par les différences constatées dans le diamètre des périthèces. Elles oscillent entre 60-100 μ pour la longueur et 8-12 μ pour le diamètre. (Il ne faut pas comprendre dans les mesures normales les asques qui ont accompli le premier stade de leur déhiscence : état de turgescence.)

Les membranes des asques sont très fines, hyalines et parfois difficiles à reconnaître avec netteté. Celle qui constitue le sac interne épouse fidèlement le contour extérieur des ascorpores ; tandis que le sac externe apparaîtra beaucoup plus régulier. Les deux membranes s'individualisent parfaitement lors de la libération des spores.

Fig. 25. — *V. pirina.* Asques (Gr. 550) et ascospores (Gr. 1.000)

Ascospores. — Les ascospores de *V. pirina*, au nombre de 8, sont rangées dans l'asque sur une seule ligne souvent hélicoïdale, rarement sur deux et seulement à la base. Elles occupent tout l'intérieur de l'asque, l'épiplasme en disparaît ainsi presque complètement. Leur coloration jaune brun et leur membrane marron-foncé les rendent très distinctes. Leur agencement dans l'asque subit peu de modifications. Disposées suivant leur longueur, elles présentent toujours leur grande

cellule vers le sommet de l'asque et par conséquent vers l'ostiole du périthèce.

De même que pour *V. inaequalis*, les ascospores de *V. pirina* présentent un septum qui les divise en deux loges inégales. Les différences de formes permettent de distinguer les deux espèces. Dans l'ensemble l'ascopore de *V. pirina* est oblongue, irrégulière, déprimée à la séparation des deux loges, avec ses extrémités en pointe arrondie. La longueur de la spore est comprise entre 16 et 19 μ, et son diamètre maximum (grande loge) 6-7 μ. Le diamètre de la petite loge n'atteint jamais celui de la grande.

Voici les rapports les plus fréquents entre longueur totale de la spore, longueur de la grande cellule et celle de la petite cellule.

Long. totale	Grande cellule	Petite cellule
16	10	6
17	10	7
17	11	6
18	12	6
18	11	7
18	10	8
19	12	7

ÉTUDE BIOLOGIQUE

I. - Evolution de la forme saprophytique

1. - Progression du mycélium en profondeur

Au moment où commence leur vie saprophytique, il importe de faire le point précis du développement complet des parasites dans la feuille. La morphologie du champignon cheminant sous la cuticule pendant la période végétative du Pommier et du Poirier a fait l'objet d'études précises de la part de Ducomet (1907) et Saccas (1944). Ils sont d'accord sur l'essentiel et, en particulier, pour affirmer que le mycélium reste toujours subcuticulaire, sauf dans de rares cas considérés comme accidentels.

Quelle est sa position exacte avant d'envoyer ses hyphes, à travers l'épiderme, dans les tissus palissadique et lacuneux ?

Les études doivent porter sur des feuilles tombant naturellement. Pour déceler ce moment avec précision, des feuilles fortement attaquées sont attachées dans l'arbre par un fil. Lorsqu'elles se détachent, elles restent suspendues au bout du fil, à ce moment la vie parasitaire du champignon est à son terme. Des coupes tangentielles et transversales nous donneront le point de départ de notre étude.

A. - Venturia inaequalis

a) Le stroma subcuticulaire

Coupes tangentielles, face supérieure. — Le mycélium ne se présente pas sous forme d'hyphes isolés, cheminant dans tous les sens et s'enchevêtrant. Les cordons mycéliens sont juxtaposés pour constituer un faisceau irrégulier, d'une épaisseur peu variable, coupés en tronçons courts par un cloisonnement curieux.

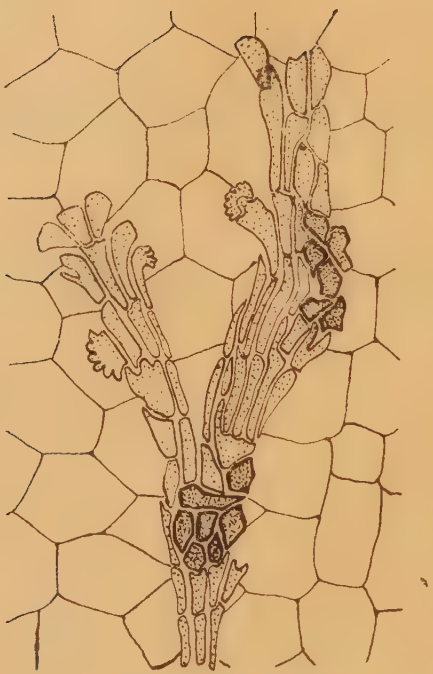


Fig. 26. — *V. inaequalis*. Selon une coupe tangentielle, face supérieure. Aspect des faisceaux mycéliens ; emplacements des conidiophores. Gr. 550.

Ces faisceaux se ramifient en créant une fourche de 30 à 60°, les deux faisceaux secondaires acquièrent la même importance et chacun d'eux devient l'équivalent du faisceau primaire.

L'ensemble conserve le sens de la progression du champignon sous la cuticule, les directions seules varient à chaque bifurcation. Avec ce mode de développement, le parasite envahit rapidement un grand espace et tend à couvrir toute la surface supérieure des cellules épidermiques. La densité du mycélium au niveau des taches est considérable.

De place en place, et principalement à la fourche des ramifications, des cellules brunes, souvent régulières, polygonales,

marquent les emplacements des conidiophores dont la direction générale est perpendiculaire ou peu oblique à la surface de la feuille.

L'allongement du mycélium se fait à partir de toutes les cellules, mais chaque cellule ne peut se développer que par une extrémité. Elle donne une nouvelle cellule qui suit la marche de l'ensemble. Les ramifications sont obtenues de façon particulière.

Les dernières cellules se renflent à leur extrémité, donnant deux ou trois dents inégales, disposées en escalier, nettement séparées entre elles. Chaque dent bourgeonne à son tour une nouvelle cellule et ainsi la cellule terminale d'un hyphe donne naissance à 2 ou 3 nouveaux hyphes mycéliens, qui, à leur tour, se diviseront suivant le même principe.

Fig. 27. — *V. inaequalis*. Détail d'une ramification d'un faisceau mycélien. Gr. 550.

Ce système de dichotomie particulière engendre l'aspect dendritique décrit par les auteurs chez *Venturia inaequalis*. Les conidiophores, dressés sur les différentes ramifications, extériorisent la marche du mycélium. Leur ensemble présente, à la loupe et même souvent à l'œil nu, cet aspect particulier qui a valu son nom à la forme conidienne : *Fusicladium dendriticum* (Wallroth) Fuckel.

Les extrémités mycéliennes ne présentent plus, aussi fréquemment, à cette date, les digitations palmatilobées caractéristiques du mycélium jeune.

La couleur du mycélium n'a pas changé pendant toute la durée de son évolution, dans la feuille vivante ; il reste hyalin, invisible, difficile à déceler avec précision. Mais sa membrane s'épaissit et le rend de plus en plus impénétrable aux colorants habituels.

Coupes tangentielles, face inférieure. — Cette remarquable organisation des hyphes progressant en faisceaux, se divisant dichotomiquement d'une façon quasi-régulière, ne se rencontre plus à la face inférieure. Le présence des très nombreux stomates constitue un élément perturbateur. D'une façon générale, les hyphes ne chevauchent pas par-dessus les ostioles et ne couvrent que partiellement les celluls stomatiques. Le mycélium contourne donc les stomates et dans ce mouvement le faisceau se désagrège en tronçons secondaires. Cette désagrégation se produit de plusieurs façons. Les hyphes qui affrontent le stomate par le travers peuvent être arrêtés net dans leur développement, le faisceau continue alors sa progression par ses éléments extérieurs qui débordent les cellules stomatiques.

Dans d'autres cas les hyphes sont simplement déviés obliquement — et quelquefois même perpendiculairement — par rapport à la direction de leur marche.

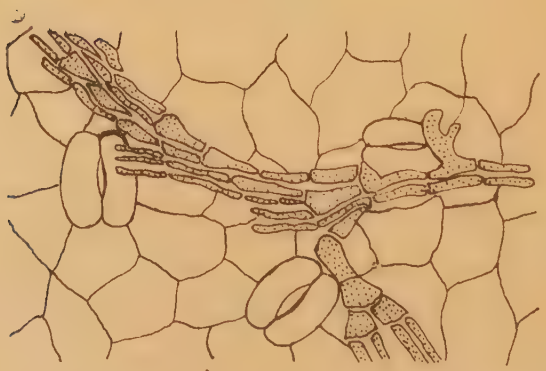


Fig. 28. — *V. inaequalis.* Faisceau mycélien influencé par les stomates. Gr. 550.

Enfin, des éléments se renflent à leur sommet, se divisent à leur contact avec le stomate et donnent des ramifications de part et d'autre de celui-ci. Cependant l'ensemble des hyphes semble témoigner d'un affolement général ; partout des divisions curieuses, des contours imprécis, des lignes sinueuses n'ayant plus de direction nette ; les faisceaux progressent dans tous les sens et chevauchent les uns sur les autres. Avec ce système de morcellement des hyphes, presque toute la surface supérieure des cellules épidermiques peut être couverte.

L'aspect dendritique constaté à la surface supérieure est détruit.

Coupes transversales. — Des coupes transversales pratiquées au niveau des taches nous permettront de préciser la position du champignon dans la feuille pendant toute la durée de la végétation. Ces coupes sont hérissées de conidiophores, distribués en paquets importants, dressés verticalement ou obliquement par rapport à l'épiderme. Leur sortie a provoqué la rupture de la cuticule. Leur couleur brun foncé les détache nettement du stroma mycélien qui leur a donné naissance. Ces stromas se situent entre la cuticule et la partie supérieure des cellules épidermiques. Ils sont très nombreux ; chaque stroma est peu important et s'étale surtout en longueur. Il est constitué par plusieurs séries de cellules (généralement de 1 à 4) superposées dont la plus externe porte les conidiophores. Chaque cellule a un diamètre variant de 6 à 12 µ, elle est irrégulière, ovale, arrondie ou polygonale. La membrane, épaissie par rapport aux hyphes jeunes, est restée hyaline.

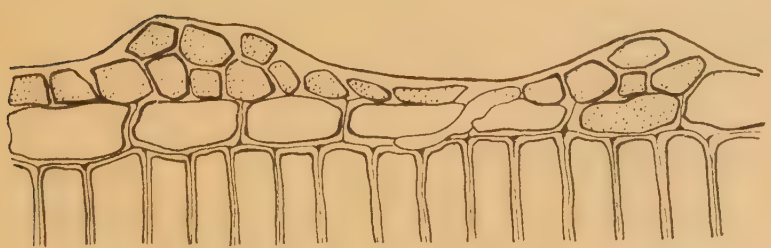


Fig. 29. — *V. inaequalis.* Dômes stromatiques à la face supérieure de la feuille. Gr. 550.

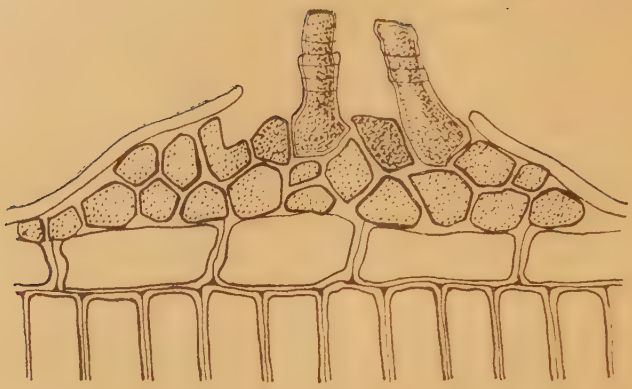


Fig. 30. — *V. inaequalis*. Stroma conidifère.
Croissance autopodiale des conidiophores. Gr. 550.

Cependant les cellules qui donnent naissance aux conidiophores se distinguent par leur position extérieure et leur coloration brune.

Lors de son développement, le stroma exerce une pression sur la cuticule et sur les cellules épidermiques. Celles-ci s'aplatissent, et si le stroma devient important elles se déforment, se gondolent. La cuticule est soulevée, puis rompue par la sortie des conidiophores. A ce moment, le stroma affecte la forme d'un petit dôme, irrégulier, à large base.

Sur une même coupe, deux stromas voisins peuvent se montrer indépendants l'un de l'autre. Mais plus fréquemment ils sont reliés par un hyphe stromatoïde cheminant sous la cuticule.

Ainsi les faisceaux mycéliens nous apparaissent formés d'un nombre variable d'hyphes juxtaposés, disposés verticalement en dômes aplatis dont les conidiophores hérissent les sommets.

b) Le mycélium interne

Le mycélium de *V. inaequalis* commence sa vie saprophytique par une extension de ses hyphes dans tous les sens. C'est une recrudescence d'activité qui aboutira à la formation et au développement de l'appareil ascogène.

Coupes tangentielles. — 6 jours après la chute de la feuille l'évolution du mycélium (dans les conditions favorables) se traduit par les caractères suivants :

— *Coloration du mycélium :* à ce moment, il est facile à repérer grâce à sa coloration brune, plus ou moins foncée suivant l'âge des hyphes. Les membranes sont noires et délimitent très nettement les filaments mycéliens. Cependant les jeunes hyphes qui continuent de se développer gardent les mêmes caractères que dans les feuilles vertes.

— *Etalement des stromas :* les angles formés par les rameaux des faisceaux mycéliens se garnissent d'hyphes disposés sans ordre, cheminant en tous sens. L'enchevêtrement est tel au niveau des taches qu'il est impossible d'y reconnaître les cellules de l'hôte. Nous constatons donc une très grande activité du parasite dès le début de son existence saprophytique.

Coupes transversales. — Deux faits caractérisent cette évolution suivant les coupes transversales : d'abord un épaississement des stromas subcuticulaires, ensuite le départ de jeunes hyphes dans la profondeur du mésophylle.

Les stromas d'été, constitués par des épaisseurs de 1 à 4 séries de cellules, comprennent, 8 jours après la chute de la feuille, 5 à 8 séries de cellules superposées qui s'étalent latéralement. La cuticule, rompue, a parfois disparu, tandis que les cellules palissadiques sont repoussées vers l'intérieur. Les cellules du stroma présentent une grosse gouttelette sphérique réfringente.

Les conidiophores, très denses, sont encore en activité, certains d'entre eux donnent naissance à leur première conidie. (Beaucoup de conidies formées à cette époque présentent une cloison.)

De jeunes hyphes, ayant l'aspect mycélien habituel, prennent naissance dans ces stromas et se dirigent en profondeur. Ce sont des filaments cloisonnés en segments inégaux, d'épaisseur variable, parfois très fins, haylins, très légèrement colorables par le bleu coton lactique, qui s'enchevêtrent et rampent d'abord à la face supérieure des cellules épidermiques. Ces hyphes pénètrent à l'intérieur des cellules épidermiques, s'y installent, continuent leur développement et finissent souvent par détruire ces cellules-hôtes. Ils se trouvent alors en contact avec la partie supérieure des cellules palissadiques ou lacuneuses, suivant la face envahie.

Il est peu fréquent qu'ils pénètrent directement dans ces tissus, ils rampent d'abord latéralement, s'enchevêtrent, occupent un espace de plus en plus grand en repoussant les cellules de part et d'autre. Puis peu à peu, le mycélium brunit, les membranes s'épaississent, de nouveaux cloisonnements

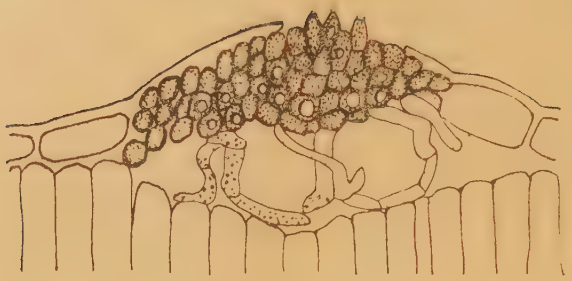


Fig. 31. — *V. inaequalis.* Développement de jeunes hyphes à partir du stroma. Gr. 550.

apparaissent. Les cellules épidermiques peuvent être complètement envahies, non seulement celles qui sont situées sous le stroma mycélien, mais aussi de part et d'autre de ce stroma grâce à la progression simultanée du mycélium latéralement et verticalement.

On y trouve en effet, à côté des vieux segments bruns, anguleux, ou arrondis, à la membrane noire et épaisse, de jeunes filaments mycéliens, incolores, fins, aux cloisons espacées. Ces jeunes hyphes ressemblent en tous points à ceux qui se développent dans les feuilles vertes récemment attaquées. Les membranes des cellules épidermiques, perforées latéralement, résistent quelque temps, puis peu à peu disparaissent quand l'envahissement par le mycélium est total.

De place en place, des hyphes s'enfoncent dans la profondeur du mésophylle.

Progression du mycélium dans le mésophylle. — En même temps que se poursuit la progression du mycélium dans les cellules épidermiques, certains hyphes prennent une direction verticale et s'enfoncent très rapidement dans la profondeur du mésophylle.

Ils prennent naissance dans le stroma subcuticulaire lui-même et alors ils progressent entre les cellules épidermiques pour atteindre le tissu palissadique ou lacuneux. Ce sont les premiers hyphes internes.

Ils peuvent aussi avoir leur point de départ dans les segments ayant envahi les cellules épidermiques, c'est le cas le plus fréquent. Les segments se multiplient jusqu'au moment où ils atteignent la face supérieure des cellules du tissu palissadique ou lacuneux, conservent jusque là leur aspect stromatoïde, puis brusquement donnent des filaments mycéliens qui s'enfoncent dans les cellules.

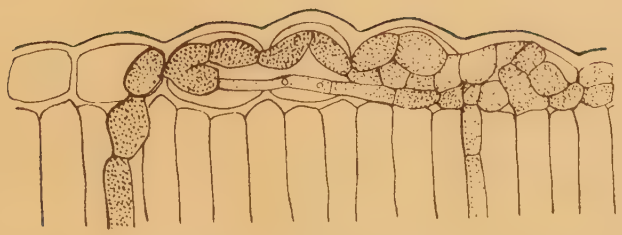


Fig. 32. — *V. inæqualis.* Progression du mycélium dans les cellules épidermiques. Gr. 550.

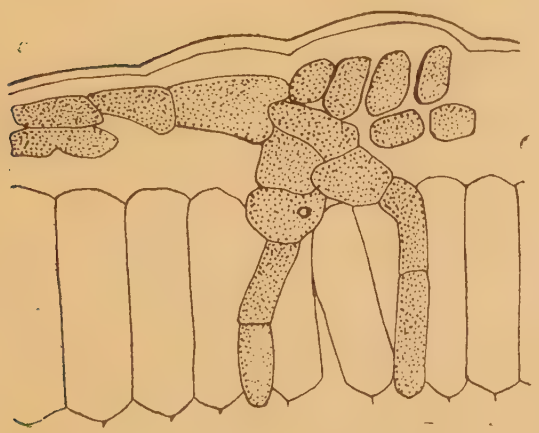


Fig. 33. — *V. inæqualis.* Détail du départ des hyphes dans le mésophylle. Gr. 800.

Ces nouveaux hyphes, d'abord fins, hyalins, peu segmentés, ne tardent pas à grossir, à brunir et à se cloisonner. Des gouttelettes réfringentes apparaissent et occupent rapidement une grosse place dans le segment. Ces hyphes s'allongent et peuvent cheminer d'un épiderme à l'autre. Mais souvent ils se ramifient. La ramification intervient surtout au contact d'une cellule et peut présenter deux aspects différents : soit que l'hyphe se divise en fourche, en deux tronçons d'égale importance, soit qu'il donne naissance à un hyphe très fin qui se développe peu par la suite.

Dans le tissu palissadique, les filaments mycéliens qui suivent les intervalles des cellules sont quasi-parallèles jusqu'au moment où le grossissement et la segmentation de l'hyphe leur donnent un aspect plus irrégulier et variqueux. Néanmoins il est rare que la direction générale perpendiculaire à la cuticule ne soit pas nettement établie pour l'ensemble des hyphes. Un cas exceptionnel peut cependant être observé. C'est celui d'hyphes qui, arrivés au niveau de la deuxième série des cellules palissadiques bifurquent, directement ou après ramification, et cheminent parallèlement à la cuticule, entre les assises de cellules.

Dans le tissu lacuneux la progression du mycélium est influencée par la disposition des cellules. Que les hyphes viennent de l'épiderme supérieur après avoir traversé le tissu palissadique ou qu'ils viennent — c'est moins fréquent — directement des stromas de la face inférieure, l'aspect est le même : c'est le désordre, c'est l'enchevêtrement, la progression en tous sens, sans direction générale bien établie.

c) Influence des facteurs du milieu sur la progression du mycélium

Action de l'humidité.

J'ai utilisé des feuilles de la variété Teint Frais, très sensible à la tavelure. Elles sont prélevées dans l'arbre et placées immédiatement dans des conditions différentes d'humidité, les autres facteurs restant les mêmes. La plupart des observations ont été faites à la lumière, d'autres à l'obscurité ; l'ensemble constitue 3 lots.

A LA LUMIÈRE.

Le 1er lot, comprenant 2 séries de feuilles cueillies le 12 octobre, placées dans des boîtes en bois avec fond garni de terre, est exposé à la lumière.

La 1re boîte, découverte, reçoit directement l'eau de pluie ; la 2e, recouverte d'une grande vitre, est arrosée régulièrement une fois par semaine à raison de 10 cm³ d'eau par boîte (117 cm² de surface).

Le 2e lot comprend des feuilles cueillies le 11 novembre dans l'arbre et placées en 3 boîtes semblables.

La 1re boîte a le fond garni d'ouate maintenue continuellement humide, le champignon est donc placé dans une humidité permanente.

La 2e boîte reçoit seulement l'eau de pluie, connaît par conséquent des alternatives d'humidité et de sécheresse.

La 3e boîte, recouverte de verre, ne reçoit pas d'eau. Les 3 boîtes sont placées sur un plateau, dehors, et subissent les mêmes influences de température et de lumière.

A L'OBSCURITÉ.

Le 3e lot est placé à l'obscurité. Les feuilles sont récoltées le 10 octobre. Il comprend 2 boîtes situées à l'intérieur, dans le noir.

La 1re boîte est maintenue absolument sèche.

La 2e reçoit 10 cm³ d'eau par semaine.

Les coupes faites régulièrement dans ces différents lots, permettent de dégager les conclusions suivantes :

1° — *Sans humidité*

Dans toutes les coupes les hyphes et stromas d'été sont restés strictement subcuticulaires. Aucun mouvement du mycélium n'a été remarqué dans les tissus foliaires. D'autres spécimens gardés en herbier et à l'air au laboratoire dans une atmosphère sèche, pendant plusieurs années, n'ont jamais révélé la moindre évolution du champignon. L'eau constitue par conséquent un facteur essentiel.

Mais si aucun développement ne se produit en l'absence d'humidité, du moins le mycélium reste vivant pendant longtemps et peut reprendre la phase active aussitôt qu'il se trouve placé en contact avec de l'eau. Des feuilles récoltées le 18 octobre, gardées en milieu sec, sont sorties le 3 janvier par temps de pluie. Après 10 jours, sous une humidité quasi constante, le mycélium a repris son activité. Les cellules épidermiques sont pénétrées dans bien des endroits et des hyphes mycéliens parcourent le mésophylle sous forme de filaments végétatifs, fins, hyalins, ramifiés, garnis de petites gouttelettes, à cloisonnement très espacé.

2° — *Les feuilles placées en atmosphère humide, mais ne recevant pas d'eau liquide*

Après une semaine : Les cellules épidermiques contiennent quelques rares segments mycéliens, colorés en brun clair.

Après 40 jours : On trouve quelques rares hyphes dans les cellules épidermiques et de plus rares encore dans le mésophylle. Ce mycélium est très fin, filamenteux, ponctué de sphérules réfringentes, non coloré.

Après 55 jours : Nous ne trouvons encore que très peu de mycélium interne, filamenteux et incolore.

Sous la seule humidité de l'atmosphère, l'évolution du champignon se fait très lentement, le mycélium reste fin, filamenteux et ne se colore pas.

3° — *Feuilles légèrement mouillées artificellement*
(10 cm^3 d'eau pour 117 cm^2 de surface foliaire, par semaine)

Il est à remarquer que les feuilles ainsi mouillées restent humides environ 24 heures.

Après 15 jours : On constate un étalement général des hyphes sous-cuticulaires, l'envahissement des cellules épidermiques par le mycélium et même la présence de quelques hyphes dans le mésophylle.

Après 30 jours : Les cellules épidermiques sont complètement envahies par des segments bruns, serrés les uns contre les autres et contenant une grosse ou plusieurs petites gouttelettes réfringentes. Le mycélium interne est déjà abondant et circule d'un épiderme à l'autre. Il est fin, hyalin ou peu coloré, uniquement constitué par des filaments végétatifs.

Après 80 jours : Le mycélium est très abondant dans tout l'intérieur de la feuille et présente les divers aspects suivants : filaments végétatifs, segments arrondis de gros diamètre, et amas stromatoïdes et, bien entendu, tous les intermédiaires entre ces stades. La couleur est d'un brun foncé intense. De nombreuses gouttelettes réfringentes ponctuent les différents rameaux mycéliens.

4° — *Conditions naturelles de pluviosité à Saint-Brieuc*
Hiver 1947-1948

— *Feuilles cueillies le 12 octobre.*

Après 16 jours : pluie 48,9 mm., répartie sur 4 jours : les 21-22-23-24 octobre.

Etalement général des hyphes subcuticulaires, envahissement des cellules épidermiques, présence d'un mycélium interne, encore filamenteux.

Après 33 jours : pluie 72,8 mm.

Cellules épidermiques complètement envahies, mycélium interne peu intense.

— *Feuilles cueillies le 11 novembre.*

Après 6 jours : 29,6 mm. d'eau.

Envahissement complet de l'épiderme, le mycélium stromatoïde est brun, avec membrane quasi-noire. Déjà beaucoup de mycélium dans le mésophylle, progressant d'une face à l'autre, filamenteux, fin, hyalin.

Tangentiellement, chaque segment montre un grand nombre de gouttelettes réfringentes, parfois 10.

Après 40 jours : 126,6 mm. d'eau.

Mycélium très abondant dans le mésophylle, avec ses divers aspects : filaments végétatifs, segments arrondis et épais, amas stromatiques, le tout d'une couleur brun foncé.

Après 57 jours : 161,2 mm. d'eau.

Caractères précédents encore plus accentués. Grosse gouttelette sphérique dans chaque segment.

5° — *Humidité permanente*

(feuilles du 11 nov. maintenues sur ouate toujours humide)

Après 6 jours : début de la pénétration dans les cellules épidermiques. Quelques rares hyphes sont visibles dans le mésophylle, très fins, hyalins, difficiles à déceler.

Après 40 jours : les cellules épidermiques sont complètement envahies par un mycélium brun. En coupes tangentielles ce mycélium présente une densité extraordinaire.

Assez peu de mycélium interne qui se présente uniquement sous la forme filamenteuse très fine, avec petites sphérules réfringentes.

Après 57 jours : le mycélium interne est encore peu abondant et toujours formé de filaments végétatifs.

Conclusion sur l'action de l'eau

Les résultats de ces expériences permettent de conclure sur le développement saprophytique du champignon sous l'action de l'eau.

1° *Sans humidité :* pas d'évolution à partir des stromas subcuticulaires qui demeurent intacts.

2° *Un état hygrométrique de l'air élevé* suffit à déclencher la progression des hyphes à travers le mésophylle de la feuille morte. Cette progression est cependant lente et limitée. *Les hyphes demeurent filamenteux, fins et peu colorés.*

3° *Une quantité minime d'eau liquide* suffit, si elle est distribuée à intervalles suffisamment réguliers pour ne pas laisser les feuilles sèches pendant trop longtemps, à assurer un *développement normal, mais lent des hyphes.*

4° *Une humidité constante* permet le développement à travers le mésophylle, *d'hyphes qui conservent l'aspect de filaments végétatifs, peu colorés.* L'évolution n'est guère plus avancée qu'en atmosphère humide.

5° *Pour des périodes d'humidité franche suivies de périodes de sécheresse*, l'optimum de développement est obtenu. Dans ces conditions on constate *la plus grande vitesse de pénétration des hyphes dans les tissus foliaires, la plus grande abondance du lacis mycélien interne, et le plus gros diamètre atteint par les hyphes, ainsi que leur coloration brune la plus foncée.*

Action de la température.

Deux séries de boîtes pourvues de feuilles de « Teint Frais » récoltées et disposées comme précédemment (action de l'humidité) servent de matériel.

1° *1re Série.* — Elle comprend des feuilles récoltées le 12 octobre et maintenues les unes à l'extérieur, les autres à l'intérieur, au laboratoire. Les boîtes reçoivent toutes les semaines 10 cm³ d'eau, seul varie le facteur température. Les températures sont relevées journellement dans les deux endroits.

— *Feuilles à l'extérieur.*

Après 15 jours : Somme des températures : 160° 1/2.

On constate un étalement des taches, la pénétration des hyphes dans les cellules épidermiques, et le cheminement de quelques filaments végétatifs dans le mésophylle.

Après 32 jours : Somme des températures : 328°.

Envahissement complet des cellules épidermiques par segments bruns, à contour net, serrés les uns contre les autres, avec gouttelettes réfringentes. Mycélium interne assez abondant à travers tout le parenchyme foliaire, d'un épiderme à l'autre. Il est fin.

Après 68 jours : Somme des températures : 549°.

Le mycélium interne est assez intense, mais comporte peu de gros segments, il conserve son aspect filamenteux.

Après 80 jours : Somme des températures : 660°.

Le mycélium interne n'est pas encore abondant ; les tubes mycéliens ont grossi.

— *Feuilles à l'intérieur.*

Après 15 jours : Somme des températures : 237° 1/4.

On constate un étalement des taches, ainsi qu'un début de pénétration dans le tissu palissadique. Le mycélium est très fin.

Après 32 jours : Somme des températures : 496° 3/4.

La pénétration dans les cellules épidermiques ne s'est effectuée que partiellement. Le mycélium est plutôt resté subcuticulaire.

A l'intérieur de la feuille, les hyphes sont peu nombreux et présentent l'aspect filamenteux.

Après 68 jours : Somme des températures : 863°.

Les cellules épidermiques placées sous les stromas sont complètement occupées par le mycélium. Les hyphes sont toujours peu abondants et présentent toujours le même aspect filamenteux. Ils sont parsemés de gouttelettes réfringentes.

Après 80 jours : Somme des températures : 981°.

Le mycélium interne est peu important, progressant d'une face à l'autre. Les hyphes n'ont guère grossi ni changé d'aspect.

Les différences de température, pourtant assez considérables pour la période envisagée, n'ont guère influencé la pénétration mycélienne à travers le parenchyme de la feuille morte. Cependant, on peut considérer la température supportée par le lot placé à l'extérieur (8° 1/4 en moyenne pendant 80 j.) plus favorable que la température de l'intérieur (moyenne journalière 12° 1/4).

2° *2e Série* de boîtes. — Les boîtes sont garnies de feuilles de la variété Teint Frais, cueillies dans l'arbre le 11 novembre. Elles sont conservées à l'obscurité complète (un linge noir recouvre chaque boîte placée dans un coin obscur), les unes près d'un radiateur fréquemment allumé, les autres dans une cave froide, et reçoivent la même quantité d'eau par semaine.

Résultats

— *A la chaleur.*

Après 12 jours : Etalement du mycélium, début de la pénétration épidermique, les stromas subcuticulaires se sont aplatis, comprimant les cellules épidermiques et formant un mamelon sous la cuticule ; parfois la cuticule est rompue, le stroma devient externe.

Le mycélium commence sa progression vers l'intérieur de la feuille à partir des stromas, les gouttelettes réfringentes dans les filaments végétatifs aident à la repérer plus facilement.

Après 37 jours : Le mycélium est encore peu abondant à l'intérieur de la feuille, difficile à déceler, il a conservé les mêmes caractères que précédemment.

Après 60 jours : Le mycélium interne est, cette fois, assez intense, surtout dans le tissu palissadique. Il a conservé son aspect filamenteux avec cloisonnement espacé, chaque cellule contient plusieurs gouttelettes réfringentes ; on y remarque également quelques segments bruns, arrondis.

— *Au local froid.*

Après 12 jours : Etalement du mycélium, début de l'invasion épidermique. Le mycélium interne part des stromas situés sur les deux faces Il est filamenteux, avec gouttelettes réfringentes.

Après 37 jours : Les cellules épidermiques sont complètement envahies. Le mycélium interne est très intense, se présentant surtout sous l'aspect de filaments épais (grosseur = 1 cellule palissadique), mais aussi de segments importants avec grosse gouttelette. Les hyphes sillonnent tout le parenchyme foliaire.

Après 60 jours : Mycélium interne abondant, surtout filamenteux, brun. Le lacis mycélien, particulièrement intense dans le palissadique, ne présente aucun caractère distinctif.

Dans cette 2e série d'expériences, les différences de températures supportées par les 2 lots à comparer sont beaucoup plus grandes que précédemment. Les résultats permettent cependant d'apporter la même conclusion :

Le développement mycélien dans les deux cas a été presque identique. La vitesse de pénétration et de développement, l'aspect du mycélium, sa densité, n'ont subi que peu de modifications du fait de ces différences de températures. Cependant, sous la température la plus basse, la progression mycélienne semble en avance, surtout après 37 jours.

Action de la lumière.

Matériel. — Boîtes de feuilles, traitées de la même façon sous tous égards, les unes placées à la lumière, sous vitre, les autres à l'obscurité, sous couvercle noir.

Saccas, lors de ses études sur les germinations de Fusicladium dendriticum à partir des conidies (1944), avait constaté que le hyphes éclairés brunissaient assez rapidement tandis qu'à l'obscurité ils restaient longtemps incolores. D'autre part la prolifération du mycélium était plus rapide à l'obscurité qu'à la lumière.

Je n'ai rien constaté de semblable malgré le grand nombre de mes observations. Il est vrai que le mycélium considéré ici est strictement interne.

Des coupes pratiquées tous les 15 jours ont donné dans tous les cas des résultats concordants. La lumière n'agit en aucune façon sur la progression du mycélium dans la profondeur du mésophylle, considérée dans son ensemble, ni sur aucun détail de cette progression : vitesse de pénétration, aspect du mycélium, densité, coloration.

B. - Venturia pirina

a) Le stroma subcuticulaire

Coupes tangentielles, face supérieure. — Il existe des différences essentielles entre le mycélium de *Venturia pirina* et celui de *V. inaequalis*. Ces différences résident surtout dans la distribution des hyphes, leur aspect général, leur mode de progression.

Le mycélium de *V. pirina* est distribué au hasard, en hyphes simples ou doubles s'enchevêtrant, avec des éléments fins et allongés et des éléments dilatés et anguleux, offrant un aspect général hétérogène.

Leur couleur passe de l'incolore, du hyalin des hyphes jeunes, au jaunâtre puis au brunâtre, et au brun foncé des hyphes âgés. Les premiers se laissent pénétrer, lentement et à chaud par le bleu coton lactique, et à froid par le bleu coton au lactophénol après un séjour prolongé, tandis que les derniers se montrent réfractaires à tous les essais de coloration.

L'aspect de l'hyphe mycélien est très variable. Jeune, il est filiforme, mince, possédant un cloisonnement espacé et peu visible. Avec l'âge, il s'épaissit, s'enfle, le nombre des cloisons augmente, déterminant de petits articles courts, irréguliers,

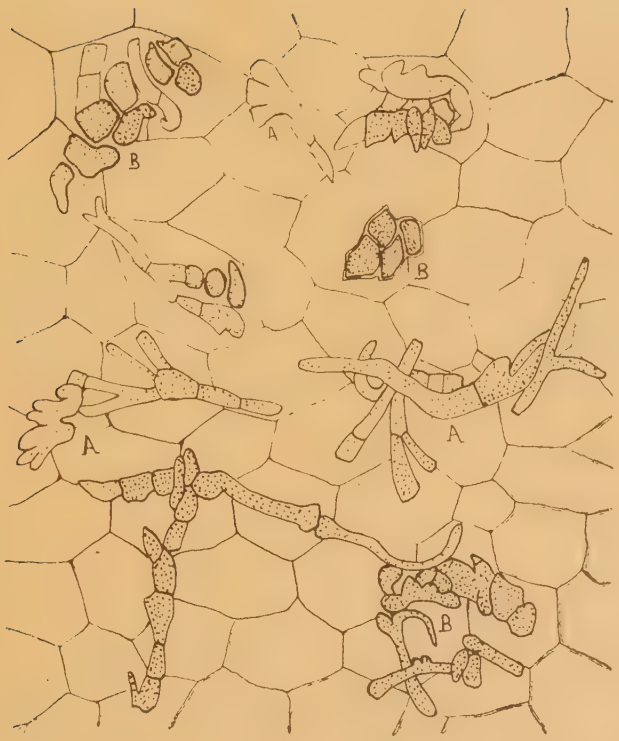


Fig. 34. — *V. pirina*. Selon une coupe tangentielle face supérieure. Divers aspects du mycélium : A : jeune ; B : âgé. Gr. 550.

arrondis ou anguleux, juxtaposés les uns aux autres. Enfin, ces articles atteignent un diamètre de 8-10 μ, leurs membranes s'épaississent, prennent une coloration brun foncé. En tant que parasite dans la feuille encore vivante, le champignon a atteint alors le stade le plus avancé de son développement. Sur la même coupe, on rencontre le mycélium fin, hyalin, avec ses digitations palmatilobées à son extrémité et les grosses cellules brunes à la membrane épaisse et imperméable aux colorants. L'ensemble ne présente pas cette continuité de *V. inaequalis*, mais un enchevêtrement disparate de densité variable. Au niveau des taches le mycélium est très dense et peut se présenter sous plusieurs épaisseurs entrelacées entre la cuticule et les cellules épidermiques.

La progression du champignon se fait dans toutes les directions à partir du point d'infection. Des ramifications interviennent sur le trajet de l'hyphe, suivant le mode décrit pour *V. inaequalis*. Une cellule se dilate à son extrémité et donne naissance à 2 ou 3 cellules-filles qui se séparent en général pour engendrer à leur tour des hyphes distincts prenant des directions différentes. Ce système de développement aboutit à un chevauchement inévitable du mycélium et à une concentration importante du champignon en certains endroits.

Fig. 35. — Détail d'une ramification.

Coupes tangentielles, face inférieure. — Chez *V. pirina*, nous ne trouvons pas de différences aussi marquées entre les aspects du mycélium à la face inférieure et à la face supérieure que chez *V. inaequalis*. Les hyphes présentent les mêmes caractéristiques qui se traduisent par les variations de la couleur, de la forme, de la progression. Mais il est certain qu'ils sont influencés dans leur marche par la présence des stomates. Mais comme les hyphes progressent isolément ou au plus par 2 ou par 3 (dans certains cas cependant j'ai pu observer des faisceaux analogues à ceux de *V. inaequalis*) le cas se résoud très simplement, ils subissent une déviation et contournent le stomate. L'ampleur de la déviation est différente suivant que le stomate présente son grand ou son petit axe. Cela ne détermine pas de perturbation spéciale dans la distribution générale des hyphes à la face inférieure.

Coupes transversales. — Les différences que nous venons de considérer dans le développement tangentiel de *Venturia*

inaequalis et *V. pirina* se retrouvent dans les coupes transversales. Elles se manifestent dans l'importance et distribution des stromas et dans l'insertion des conidiophores. Le mycélium se présente tout au long de la coupe sous une densité presque homogène ; les cellules sont contiguës, sans interruption, sauf toutefois au niveau des stomates, et alignées sur une seule file. Par endroits, nous trouvons quelques cellules superposées sur 2 rangs, rarement sur 3. Il en résulte que les dômes stromatiques décrits pour *V. inaequalis* ne retrouvent pas d'équivalents ici ; nous observons seulement des irrégularités peu importantes dans l'épaisseur des hyphes entre cuticule et cellules épidermiques.

Le mode d'insertion des conidiophores témoigne également de cette homogénéité d'épaisseur. Tout au long d'une coupe nous en trouvons un grand nombre, dressés isolément, un peu au hasard, après avoir rompu la cuticule. Parfois 2 ou 3 conidiophores peuvent voisiner, mais nous ne trouvons jamais de véritables paquets issus du même stroma.

Tandis que les cellules jeunes sont hyalines, les aînées sont jaune clair ou jaune brun, les cellules conidifères brun clair et les conidiophores brun foncé. Ces couleurs vont s'uniformiser au cours de la vie saprophytique.

L'aspect des conidiophores, ainsi que le mode de formation des conidies, qui ne nous intéressent pas ici, est très différent chez ces deux parasites.

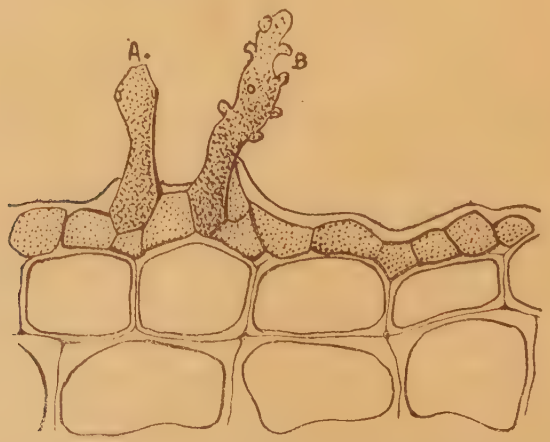


Fig. 36. — *V. pirina*. Selon une coupe transversale. Aspect du mycélium. A : conidiophore jeune ; B : conidiophore âgé. (Remarquer la croissance sympodiale.) Gr. 550.

b) Le mycélium interne

De même que *V. inaequalis*, *V. pirina* commence sa phase saprophytique par un redoublement d'activité qui se manifeste par le développement de jeunes hyphes progressant en tous sens. Nous en trouvons sous la cuticule, à l'intérieur des cellules épidermiques et à travers le mésophylle.

Coupes tangentielles. — Elles révèlent un développement analogue à celui de *V. inaequalis*. L'activité mycélienne apparaît quelques jours après la chute de la feuille (dans les conditions favorables) par un étalement en surface entre cuticule et épiderme. Des jeunes hyphes progressent rapidement en toutes directions, tantôt très fins, incolores, avec une membrane mince laissant pénétrer lentement le bleu coton lactique et présentant des cloisons espacées, à peine visibles. Pendant cette progression, les vieux hyphes prennent une teinte brune de plus en plus foncée et deviennent impénétrables par les colorants, même à chaud. Leur membrane épaissie et bientôt d'un marron noir permet de les observer avec une netteté suffisante lorsqu'on décolore légèrement les cellules environnantes en plongeant les coupes quelques instants dans l'hypochlorite de soude.

Bientôt la surface entière comprise entre épiderme et cuticule, au niveau d'une tache conidienne, est sillonnée par plusieurs épaisseurs d'hyphes aux aspects les plus variés.

Coupes transversales. — Les stromas sous cuticulaires d'été s'épaississent peu et ne prennent jamais l'importance de ceux de *V. inaequalis*. De jeunes hyphes prennent naissance dans ces stromas et tout au long du mycélium subcuticulaire se dirigeant vers l'intérieur de la feuille en pénétrant d'abord dans les cellules épidermiques. Pour la première fois intracellulaire, le mycélium se comporte de plusieurs manières. Il pénètre dans une cellule épidermique, progresse intérieurement en longeant la membrane et en fait ainsi le tour complet.

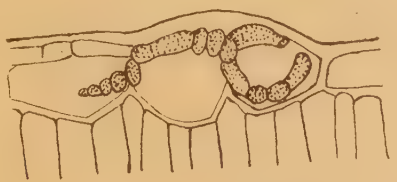


Fig. 37. — *V. pirina*. Mycélium dans les cellules épidermiques. Gr. 550.

Il s'y installe, continue son développement et exerce une pression de plus en plus forte sur les parois. Après la rupture des membranes, le mycélium envahit facilement les cellules voisines et continue d'autant plus vite sa progression.

Ainsi les cellules épidermiques sont traversées latéralement par une ou plusieurs épaisseurs d'hyphes qui brunissent rapidement. Des gouttelettes réfringentes apparaissent et deviennent parfois volumineuses.

Les cellules stomatiques peuvent être envahies par le mycélium de la même façon que les autres cellules de l'épiderme.

Fig. 38. — *V. pirina*. Mycélium dans les cellules épidermiques au niveau d'un stomate. Gr. 550.

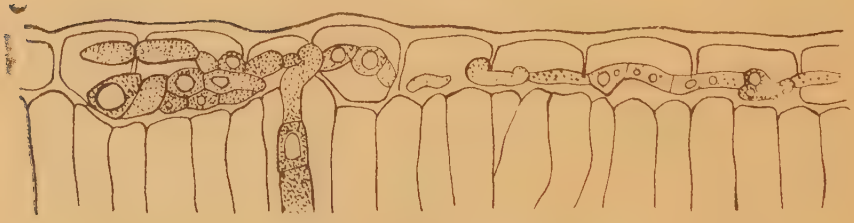


Fig. 39. — *V. pirina*. Progression latérale du mycélium dans les cellules épidermiques. Gr. 550.

En même temps que s'amorce et se poursuit cette progression latérale du champignon sous la cuticule et dans les cellules épidermiques, une progression dans le sens vertical se développe très activement.

PROGRESSION DU MYCÉLIUM DANS LE MÉSOPHYLLE

Le point de départ de cette progression se trouve fréquemment dans les segments grossis et bruns du mycélium subcuticulaire. Les pousses mycéliennes se frayent un passage entre

les cellules épidermiques, atteignent la partie supérieure des cellules du mésophylle. Elles marquent quelquefois un temps d'arrêt à ce moment, cheminant entre épiderme et tissu palissadique ou lacuneux, latéralement, puis rentrent dans la profondeur de la feuille.

Mais ce sont surtout les hyphes stromatoïdes développés dans les cellules épidermiques qui donnent naissance au mycélium interne.

A la face supérieure de la feuille, le mycélium pénètre entre deux cellules palissadiques, s'allonge rapidement et atteint le tissu lacuneux dans lequel il continue sa progression. La direction générale des hyphes dans les cellules palissadiques est moins régulière que pour *V. inaequalis* ; très fréquemment la marche du mycélium est oblique par rapport à la grande dimension des cellules, des bifurcations peuvent aussi l'acheminer en des directions bien différentes.

La progression dans le tissu lacuneux est influencée par la forme et la disposition des cellules. Les hyphes cheminent entre les cellules, dans tous les sens, les écartent et les compriment, s'entrecroisent et présentent tous les cas de formes et de dimensions du mycélium. Les segments grossissent très rapidement, accentuent leur coloration brune, et s'emplissent d'une grosse gouttelette réfringente.

Cette progression trouve un obstacle sérieux au niveau des nervures. Les hyphes sont arrêtés par les vaisseaux ligneux, mais peuvent pénétrer dans les cellules compagnes qu'elles longent, dans le sens de la nervure. On en trouve également entre et dans les cellules collenchymateuses, progressant toujours le long de la nervure.

Fig. 40. — *V. pirina*. Position du mycélium au contact d'une nervure. Gr. 550.

En définitive, la progression du champignon à l'intérieur de la feuille est caractérisée par le développement d'hyphes qui cheminent d'un épiderme à l'autre en empruntant les espaces intercellulaires ou plus rarement en traversant les cellules sur son passage.

c) Influence des facteurs du milieu sur la progression du mycélium

J'ai étudié, dans leurs rapports avec la progression de *V. pirina* les mêmes facteurs que pour *V. inaequalis :* humidité, température, lumière. La technique employée était la même, les boîtes contenant les feuilles de poirier étaient placées à côté de celles qui contenaient les feuilles de pommier et exactement dans les mêmes conditions, les feuilles étant récoltées le même jour. Cette méthode m'a permis d'établir un parallèle entre les évolutions des deux champignons et de rectifier certaines erreurs concernant des différences notables qui auraient été constatées quant à leur vitesse de développement et en particulier de la formation des périthèces. Le matériel employé était constitué par des feuilles tavelées de la variété Beurré Hardy.

Action de l'humidité.

1° — *Sans humidité*

Des coupes sont pratiquées dans des feuilles conservées au sec depuis leur récolte, les unes en milieu éclairé, les autres à l'obscurité. Les observations sont les mêmes dans les deux cas. Le mycélium ne quitte guère sa position subcuticulaire : 3 mois, 1 an, 2 ans après la chute de la feuille on reconnaît les mêmes emplacements aux stromas conidiens. Cependant dans quelques cas, assez rares, des hyphes fins, hyalins, avec gouttelettes réfringentes verdâtres, semblant profiter de la place laissée par des méats entre les cellules, font une incursion dans les lacunes. Le mycélium reste court et ne circule jamais d'un épiderme à l'autre. On ne peut parler d'activité ou d'évolution. Mais le champignon reste vivant et peut reprendre sa phase active si l'humidité suffisante lui est fournie.

2° — *En atmosphère humide*

(Sans eau liquide, les feuilles n'ont jamais paru mouillées)

Après 10 jours : Très peu d'évolution. Quelques rares segments sont observés dans les cellules épidermiques.

Après 30 jours : Nous trouvons du mycélium à travers le mésophylle, d'un épiderme à l'autre, sous forme de filaments fins, et aussi de quelques segments arrondis peu colorés.

Après 50 jours : Les cellules épidermiques sont complètement occupées par le champignon. Le mycélium interne est abondant et constitué par de gros segments bruns, à membrane noire, avec plusieurs gouttelettes réfringentes par segment. On y constate aussi des filaments végétatifs.

Après 64 jours : Le mycélium observé était surtout filamenteux et peu coloré.

Après un démarrage lent pendant les 30 premiers jours, le mycélium reprend par la suite son activité qui aboutit à la formation d'hyphes internes semblables à ceux qui se développent dans les feuilles mouillées.

3° — *Feuilles légèrement mouillées artificiellement*
(10 cm³ d'eau par semaine, répartie en une seule fois sur 117 cm² de surface foliaire)

Après 14 jours : Début de la pénétration dans les cellules épidermiques et dans les tissus palissadiques et lacuneux. Quelques hyphes circulent d'un épiderme à l'autre. Mycélium encore hyalin, peu visible, sans coloration.

Après 40 jours : La pénétration interne est plus complète, le mycélium comporte surtout des filaments végétatifs, mais aussi des segments bruns.

Après 60 jours : Les cellules épidermiques sont envahier sur les 2 faces. Les hyphes internes sont très abondants et proviennent des 2 cuticules.

Le mycélium stromatoïde par endroits, formé de gros segments souvent en chapelets, moniliformes, domine nettement, alors que les filaments végétatifs, fins et moins colorés, circulent dans tous les sens.

Après 70 jours : Mycélium interne particulièrement abondant dans tout le parenchyme foliaire, très brun, très épais, formé d'énormes segments avec une ou plusieurs grosses gouttelettes. On constate en même temps la présence d'hyphes filamenteux moins colorés. Très beau à ce stade ; certains segments ont pour diamètre 14 µ.

4° *Conditions naturelles de pluviosité à Saint-Brieuc*
Hiver 1947-1948

— *Feuilles cueillies le 12 octobre.*

Après 14 jours : 48,9 mm. d'eau. — Le mycélium se localise surtout dans les cellules épidermiques, sur les 2 faces des

feuilles, mais on en trouve aussi dans le mésophylle (hyphes fins).

Après 60 jours : 134,8 mm. d'eau.

Le mycélium interne est très abondant, allant d'un épiderme à l'autre, formé de très gros segments contenant une très grosse gouttelette.

Après 75 jours : 138 mm. d'eau.

Caractères encore plus marqués qu'après 60 jours.

Après 90 jours : 184,6 mm., mêmes caractères. Le mycélium a atteint le stade maximum de son développement.

— *Feuilles cueillies le 11 novembre.*

Après 30 jours : 101,3 mm d'eau.

Mycélium interne assez abondant, surtout sous forme de filaments végétatifs.

Après 60 jours : 187,6 mm.

Mycélium abondant dans le mésophylle, présente tous les aspects, depuis les jeunes hyphes très fins jusqu'aux très gros segments. D'une couleur brune très foncée.

5° — *Humidité permanente*

— *Feuilles sur ouate maintenue constamment mouillée.*

Après 9 jours : Les cellules épidermiques sont envahies. Des prolongements internes, déjà remarquables, circulent dans tout le parenchyme foliaire, d'un épiderme à l'autre. Le mycélium, encore plus dense, comprend de gros segments arrondis avec une grosse gouttelette remplissant presque tout le segment, et des jeunes hyphes fins, hyalins.

Après 30 jours : Le mycélium interne est abondant et progresse dans tous les sens. Il se présente surtout sous la forme stromatoïde, principalement sous la cuticule et dans les cellules épidermiques. Certains segments, dilatés, possèdent une membrane noire, épaisse, et contiennent une ou plusieurs gouttelettes réfringentes.

Après 50 jours : Mêmes constatations qu'après 30 jours. A noter encore la présence de très nombreux filaments végétatifs.

Conclusion sur l'action de l'eau

1° Sans humidité, le mycélium demeure strictement subcuticulaire, pas de progression interne.

2° Un état hygrométrique élevé de l'air permet, avec un peu de lenteur, un développement normal des hyphes dans le parenchyme foliaire.

3° La quantité d'eau reçue par les feuilles n'influence que d'une façon très peu sensible la progression interne du champignon.

4° Une humidité permanente se montre favorable à une extension rapide des hyphes internes de *V. pirina*.

Comparaison avec la progression de *V. inaequalis* dans les mêmes conditions

Le développement des hyphes internes des 2 champignons ne présente pas de différences quant au mode de végétation, d'un épiderme à l'autre, au grossissement, à la coloration. Mais leurs vitesses de croissance ne suivent pas la même courbe. Le stade plus avancé du développement mycélien est atteint lorsque les gros segments arrondis et brun-foncé offrent une grande densité dans tout le parenchyme foliaire. Dans les conditions envisagées plus haut, ce stade est obtenu dans les temps suivants :

	pirina	*inaequalis*
a) En atmosphère humide (sans eau).	50 jours	
b) Avec 10 cm³ d'eau par semaine....	50 jours	80 jours
c) Conditions naturelles (1947).....	50 jours	40 jours
d) Humidité permanente	30 jours	

L'optimum de développement est obtenu pour *V. inaequalis* par des alternatives fréquentes de pluie et de sécheresse au bout de 40 jours, et pour *V. pirina* dans une humidité permanente, au bout de 30 jours. Celui-ci se montre moins exigent concernant l'humidité nécessaire à sa progression complète.

Action de la température.

Elle a été étudiée dans les mêmes conditions que pour *V. inaequalis*, à l'extérieur et au laboratoire. Les feuilles recevaient la même quantité d'eau par semaine (10 cm³ pour 117 cm² de surface foliaire).

1° — *Première série de boîtes*

— Feuilles à l'extérieur.

Après 13 jours : 144°. Pas de pénétration interne, mycélium reste incolore, difficile à déceler.

Après 40 jours : 406°. — Mycélium particulièrement épais dans tout l'intérieur de la feuille.

Caractères. — Hyphes formés de segments épais avec membrane noire contenant une grosse gouttelette réfringente. Ega-

lement mycélium fin, à cloisonnement espacé, formé d'hyphes végétatifs, contenant plusieurs gouttelettes réfringentes dans chaque cellule.

Après 57 jours : 482° 1/4. Mycélium interne très abondant, stromatoïde, formé de gros segments bruns, disposés en file, moniliformes avec grosse gouttelette ; en plus, mycélium fin, d'aspect mycélien habituel, moins coloré.

Après 70 jours : 561° 3/4. Mêmes caractères que précédemment.

— *Feuilles à l'intérieur.*

Après 13 jours . 207° 1/2. Mycélium non coloré, début de la pénétration interne.

Après 40 jours : 606° 1/2. Pénétration interne, mais mycélium peu abondant, brun, formé de grosses cellules, et surtout d'hyphes végétatifs fins avec gouttelettes réfringentes.

Après 58 jours : 778° 3/4. Mycélium interne assez abondant, formé de gros segments, à coloration très foncée, à la membrane noire. Ce mycélium est surtout localisé dans la région épidermique.

Après 70 jours : 886°. Les cellules épidermiques surtout sont envahies par le mycélium constitué par des segments bruns. Mais peu de mycélium interne.

Après 90 jours : 1.093°. Mycélium brun, épais, formé de gros segments et aussi de filaments fins.

On constate très peu de différences d'évolution dans les deux cas. Cependant à l'extérieur, à la température la plus basse, le champignon semble favorisé dans son développement.

2° — *Deuxième série de boîtes*

— *A la chaleur* (température la plus basse 16°, la plus élevée 18°).

Après 12 jours : Très peu de mycélium interne, peu ou pas coloré.

Après 50 jours : Cellules épidermiques complètement envahies, mycélium interne très abondant, brun, stromatoïde et filamenteux. Stromas sous-cuticulaires importants.

Après 65 jours : Mycélium très abondant avec tous ses divers aspects particulièrement épais et brun.

— *Au local froid* (température la plus basse 6°, et la plus élevée 12°).

Après 12 jours : Un peu de mycélium interne, très peu coloré.

Après 50 jours : Mycélium interne très intense, aux différents aspects, très gros segments avec gouttelettes réfringentes. Développement mycélien nettement en avance sur le cas précédent (à la chaleur).

Après 65 jours : Mêmes caractères qu'après 50 jours ; un peu renforcés. (En avance sur le cas précédent, surtout au point de vue abondance et grosseur des segments.)

Dans ce deuxième cas, nous trouvons encore peu de différences dans les deux évolutions. Cependant, à la cave (température moyenne 9° 3/4), le développement a un peu d'avance. *En définitive, on peut donc conclure que les températures basses sont les plus favorables pour l'évolution de V. pirina.*

Comparaison avec l'évolution de *V. inaequalis*

Aucune différence notable ne se remarque dans l'action de la température sur le développement des 2 champignons, du moins dans les limites qui ont pu faire l'objet de ces études.

Action de la lumière

Des feuilles placées dans des boîtes, exactement dans les mêmes conditions, recevant aux mêmes heures la même quantité d'eau, sont exposées côte à côte, les unes sous vitre, les autres sous couvercle noir.

Les coupes pratiquées aux mêmes dates ont donné, chaque fois, des résultats absolument analogues. La lumière n'a exercé aucune action sur la pénétration et le développement internes des hyphes de *V. pirina.*

2. - Les périthèces jeunes

A. - Venturia inaequalis

a) Dates de formation

La formation des périthèces de *V. inaequalis* débute d'une façon générale en automne, dès le mois de septembre. Elle se poursuit pendant l'hiver et même au-delà, s'échelonnant ainsi sur plusieurs mois. Elle dépend essentiellement de la date de la chute de la feuille et de la pluviosité.

Des feuilles présentant de nombreuses taches conidiennes bien apparentes ont été prélevées le 12 octobre sur pommier de plein vent, de la variété Teint Frais. Maintenues par un grillage dans les conditions naturelles, sur le sol, elles ont donné, après 16 jours, des conceptacles nombreux sur les deux faces, certains atteignaient déjà un diamètre de 90 µ. Ces jeunes périthèces avaient acquis, en 16 jours, plus de la moitié de leurs dimensions définitives ; ils se localisaient sous la cuticule qu'ils repoussaient, ils ne présentaient à ce moment aucun caractère particulier de différenciation.

Mais quelques jours seulement suffisent pour donner des conceptacles nettement individualisés. Des feuilles prélevées le 11 novembre ont donné au bout de 6 jours des jeunes périthèces bien formés dont le diamètre variait de 30 à 40 µ. En même temps le mycélium continuait sa progression dans les cellules épidermiques et dans le mésophylle.

De très nombreuses observations semblables permettent d'affirmer que dans des conditions favorables — présence d'eau — les jeunes périthèces se forment pendant les quelques jours qui suivent la chute de la feuille. Très souvent d'ailleurs les conidiophores poursuivent leur activité pendant plusieurs jours après la chute si le temps est humide et libèrent de nombreuses conidies alors que les jeunes périthèces sont déjà en place. Les formes *Fusicladium* et *Venturia* coexistent donc sur les feuilles pendant un temps généralement court.

Cependant, sur une tache conidienne précise, la formation des périthèces est échelonnée, leur nombre s'accroît continuellement tout au long de la phase saprophytique. Au moment de la maturité des plus précoces, d'autres sont en plein développement et certains à l'état d'ébauches. Il en résulte que la maturité et les dates d'expulsion des ascospores sont échelonnées sur plusieurs mois et le danger des contaminations dure, dans nos régions, depuis fin mars jusqu'au début de juillet.

b) Mode de formation

Emplacement. — Chez les Spériales, les périthèces se développent fréquemment dans un amas stromatique qui leur sert d'enveloppe extérieure. S'il en était ainsi pour nos Venturia, les jeunes périthèces seraient toujours placés sous la cuticule puisque les stromas mycéliens demeurent strictement subcuticulaires. Or, les conceptacles prennent naissance non seulement dans la région épidermique, mais dans tout le parenchyme foliaire, parfois même à cheval sur les tissus palissadique et lacuneux, dans toutes régions où il n'existe jamais de stromas mycéliens de *Venturia*.

Les périthèces de *V. inaequalis* ont leur origine dans la différenciation et le développement d'un *procarpe*.

Le procarpe. — Le procarpe se différencie sur le trajet d'hyphes végétatifs normaux qu'ils cheminent en faisceaux ou isolément. Les coupes tangentielles nous en révèlent les deux aspects. Le long d'un cordon mycélien, un filament s'isole et se modifie. Il quitte brusquement le cordon et donne un rameau court et épais. La segmentation de ce rameau aboutit à la formation de grosses cellules disposées en file, de 8 à 12 µ de diamètre, arrondies, ovoïdes ou ellipsoïdes. Les membranes s'épaississent (jusqu'à 1 µ) tandis que le cytoplasme se condense et que les gouttelettes lipidiques se multiplient (*a* et *b* de la fig. 41).

Sur les hyphes solitaires, qu'ils soient subcuticulaires ou internes, le procarpe peut présenter un aspect un peu différent. L'extrémité du filament se caractérise par une légère augmentation du diamètre des cellules, un épaississement du contenu cytoplasmique et l'apparition de nombreuses gouttelettes réfringentes. La cellule terminale s'enfle et s'arrondit. L'avant-dernière cellule possède des dilatations et fréquemment des bourgeonnements latéraux (*c* et *d*).

Voyons d'abord ce que devient la cellule terminale. Le début de son développement consiste en un allongement d'un seul côté qui amène une disposition en crochet (fig. *e*).

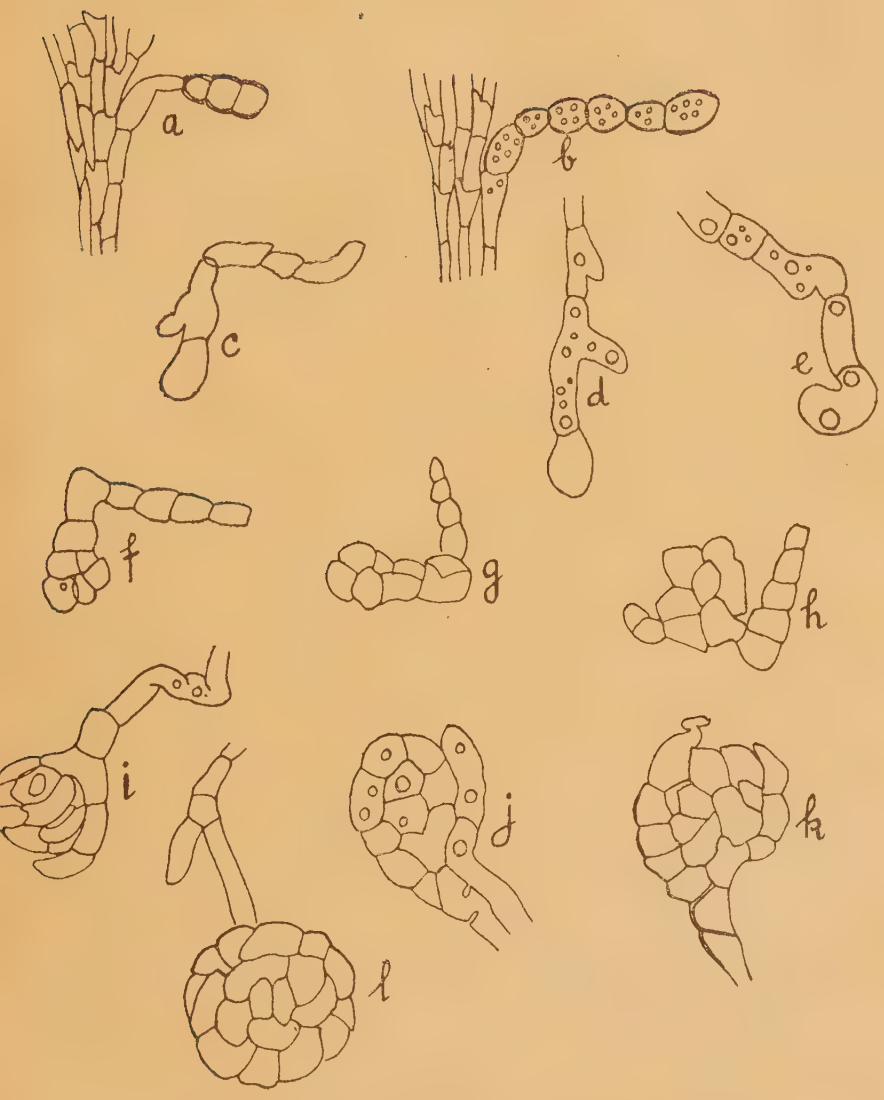


Fig. 41. — *V. inaequalis*. Formation du jeune conceptacle.
a, b : le procarpe ; c et d : différenciation des dernières cellules, e : disposition en crochet, f, g, h : formation d'un nœud pectenchymateux ; i, j, k : recouvrement du nœud ; l : jeune périthèce.

Puis par une série de divisions cellulaires, il se forme un petit tubercule, un nœud plectenchymateux, arrondi, de 12 à 20 μ de diamètre (*f*, *g*, *h*).

A ce moment, la cellule située à la base de ce jeune conceptacle commence des divisions et engendre les filaments recouvrants dont l'ensemble formera l'ascothécium. Ces filaments sont constitués par des cellules à contour extérieur arrondi et à parois épaisses et brun foncé. Les jeunes cellules des extrémités, provenant de divisions récentes, se distinguent par des membranes fines et hyalines (*i*, *j*, *k*).

Lorsque la prolifération de ces cellules externes a amené le recouvrement complet du jeune tubercule, on peut considérer que le périthèce est né, son diamètre varie de 30 à 45 μ.

c) Développement du jeune périthèce

Ce jeune conceptacle, formé sous la cuticule ou dans la profondeur du mésophylle, se développe rapidement si les conditions extérieures lui sont favorables. Son volume s'accroît en donnant un périthèce globuleux et régulier. Les cellules internes continuent activement leurs divisions et augmentent leurs dimensions. Bientôt tout l'intérieur se distingue de la membrane périthéciale par une masse de cellules régulières, polyédriques, parfaitement hyalines, à parois fines et nettes. Elles se garnissent de gouttelettes réfringentes, parfois nombreuses, mais qui restent généralement petites. Lorque le périthèce atteint son diamètre définitif, une modification des cellules internes apparaît, qui indique une nouvelle phase de son activité. Les cellules s'individualisent, se rendent indépendantes les unes des autres et semblent libres au sein d'une masse de gelée. C'est le stade *préascal*, à partir duquel l'appareil ascogène va entrer en fonctionnement.

L'accroissement du volume interne a pour conséquence de provoquer la division simultanée des cellules de l'ascothécium. Cependant celui-ci conservera une seule ou deux assises de cellules, ce qui indique que les divisions intéressent un seul sens.

Je n'ai pas constaté l'épaississement régulier de l'ascothécium décrit par certains auteurs qui le portent à 3 et même 4 séries de cellules en fin de développement.

Le col et l'ostiole. — Au cours de cette évolution, à une date qui peut être fixée, dans les conditions optima, à 60-80 jours après la chute de la feuille, le périthèce se pourvoit d'un col. Ce col naît d'une prolifération des cellules de l'ascothécium au pôle le plus rapproché de la cuticule de la feuille. D'abord

conique, soulevant puis rompant la cuticule à l'aide de sa pointe, il fait saillie à l'extérieur en même temps que s'élargit sa base. Presque simultanément, un ostiole apparaît à l'intérieur du col dont les cellules apicales s'écartent. Tandis que la forme générale du col devient tronconique, celle de l'ostiole affecte un cylindre plus ou moins régulier. *L'ensemble de ce dispositif est en place très longtemps avant la maturité du périthèce.* Ce fait doit être signalé, car il s'écarte de la règle générale. En effet, d'après CHADEFAUD (Biologie des champignons), « Chez les Sphériales, le périthèce se pourvoit à maturité d'un col percé d'un ostiole pour la sortie des spores ».

D'autre part, l'existence du col et de l'ostiole n'a pas toujours de rapport avec la projection des ascospores ; nous avons là l'exemple d'organes qui, fréquemment dans les conditions naturelles, se trouvent sans fonction.

A ce moment, *au stade préascal*, le périthèce, pourvu de son col et de son ostiole, est complet et atteint ses dimensions définitives.

d) Influence des facteurs du milieu sur la formation et le développement des périthèces

Le dispositif qui nous a servi pour l'étude de la progression interne du mycélium des deux Venturia a été utilisé pour l'étude de l'influence des facteurs : eau, température, lumière sur la formation et le développement des périthèces.

Action de l'humidité

1° — *Sans eau liquide, les feuilles subissent uniquement l'état hygrométrique de l'air*

Dans ces conditions les périthèces se forment. Au bout de 6 jours on reconnaît de nombreux nœuds mycéliens, ébauches de périthèces. Le développement se fait normalement. Nous savons que dans ces conditions la pénétration interne du mycélium est lente et peu importante. Ceci explique que les périthèces se forment sur les hyphes subcuticulaires et restent toujours superficiels et même un peu saillants.

2° — *Feuilles recevant 10 cm³ d'eau par semaine* (pour 117 cm² de surface foliaire)

Le développement est d'abord rapide, les jeunes périthèces atteignent en diamètre de 50 à 60 μ au bout de 16 jours, on constate ensuite une croissance régulière (augmentation du diamètre et évolution).

3° — *Conditions naturelles de pluviosité* (1947-1948)

— *Feuilles tombées naturellement le 12 octobre.*

Au bout de 16 jours : hauteur de pluie : 48,9 mm.

Développement de nombreux conceptacles sur les 2 faces des feuilles.

Diamètre 75 à 90 µ. Leur évolution est normale par la suite, favorisée par des alternatives régulières de pluie et de sécheresse.

— *Feuilles tombées naturellement le 11 novembre.*

Elles ont présenté une évolution remarquable par le nombre des périthèces formés et par la régularité de leur accroissement dans le temps (pluies fréquentes).

4° — *Humidité permanente*

Les périthèces se forment et se développent normalement et régulièrement, un peu plus lentement cependant que ceux qui connaissent des périodes de sécheresse.

5° — *Sans humidité*

Des spécimens conservés en herbier ou dans des boites maintenues dans un local sec n'ont jamais présenté d'ébauches de périthèces, pas plus que les hyphes n'ont évolué dans le mésophylle.

Conclusion sur l'action de l'humidité

Le manque total d'humidité constitue le seul cas inhibiteur pour lequel on ne constate aucune formation périthéciale. Par contre l'humidité de l'atmosphère suffit ; on constate que la quantité d'eau reçue par les feuilles a peu d'importance sur la formation des périthèces, elle agit seulement sur la vitesse de leur développement. Un excès d'eau apporte un retard net dans leur évolution.

b) Action de la température

De grandes différences existent entre les optima fixés par différents auteurs concernant le facteur température sur le premier développement des périthèces. Wilson (1928) place l'optimum pour le début de la formation des périthèces entre + 13° C. et + 16° C.

D'après Gussow (1928) l'optimum pour la formation des périthèces serait + 3° (feuilles maintenues à température constante au frigorifique).

Les 3 séries d'expériences suivantes semblent aboutir à des résultats intermédiaires.

1° Les lots examinés comprenaient des feuilles récoltées le 12 octobre et maintenues, les unes dehors, les autres au laboratoire. Seul variait le facteur température.

Au bout de 80 jours, la somme des températures s'élevait à 660°, soit une moyenne journalière de 8° 1/4 pour les feuilles de l'extérieur et à 981°, soit une moyenne de 12° 1/4 pour les feuilles de l'intérieur.

La formation et le développement des périthèces ont été marquées par une avance très nette dans les feuilles de l'extérieur (évolution plus rapide, diamètre plus grand).

2° Des lots de feuilles subissent, les uns de grands écarts de températures, de 6° à 20° par intermittences irrégulières, les autres des écarts plus faibles, de 6 à 10°.

Les périthèces se sont formés avec la même vitesse dans les deux cas, mais dans leur développement ultérieur, ceux qui subissaient les écarts 6-10° ont manifesté une légère avance.

3° Des feuilles sont maintenues au frigorifique à la température constante de + 4° C.

Les périthèces se forment normalement mais lentement. Au bout de 42 jours ce sont de petits tubercules de 30 µ de diamètre environ. Dans les mêmes conditions d'humidité, d'autres feuilles, subissant une température moyenne de 9° C., ont fourni des périthèces de 40 µ de diamètre au bout de 6 jours.

A + 4° le développement est très lent.

Conclusion sur l'action de la température

Les périthèces de *V. inaequalis* peuvent se former et se développer à des températures basses, sans doute au-dessous de + 4°, et à des températures élevées, au moins à + 20°.

L'optimum — qui permet le plus de rapidité dans leur formation et leur évolution — se situe entre 8° et 10° C.

Action de la lumière

La comparaison entre les périthèces obtenus dans les feuilles placées à la lumière ou à l'obscurité, les autres conditions étant les mêmes, permet de conclure que la lumière n'influence en aucune façon la formation, le développement, la taille ou la coloration des périthèces.

Mais son action se manifeste d'une façon nette sur la *localisation des périthèces dans les feuilles*. Une étude spéciale s'imposait à ce sujet.

D'après Gussow, les périthèces se forment bien sur les feuilles placées à la surface, mal ou pas du tout sur celles qui sont recouvertes par d'autres. Darpoux (*Annales des Epiphyties*, 1943) écrit : « On les rencontre (les périthèces) en grand nombre sur la face des feuilles exposée à la lumière. »

Mes recherches ont eu pour objet de vérifier l'exactitude de ces faits et de démontrer que c'est bien la lumière qui est responsable de cette localisation des périthèces

Matériel utilisé

1° Feuilles maintenues sous grillage, à la lumière, l'une ou l'autre face dessus.

2° Feuilles placées à l'obscurité complète.

3° Feuilles empilées les unes sur les autres (de 10 à 20), maintenues par une pointe sur une planchette.

4° Feuilles collées à plat sous une planchette, la lumière venant uniquement par dessous.

Conclusions pour chaque groupe d'expériences

1° *Coupes dans les feuilles dont la face supérieure était placée à la lumière.*

315 coupes ont présenté 273 périthèces dont :
206 à la face supérieure, soit une proportion de *75,45* %,
64 à la face inférieure,
11 au centre.

Coupes dans les feuilles dont la face inférieure était placée à la lumière.

91 coupes ont présenté 187 périthèces dont :
151 à la face inférieure, soit une proportion de *80,74* %,
35 à la face supérieure,
1 au centre.

2° *Feuilles ayant la face supérieure dessus.*

Pour 99 périthèces observés :

66 se trouvaient à la face supérieure, soit *66,66* %,
33 à la face inférieure.

Feuilles ayant la face inférieure dessus.

Pour 46 périthèces observés :

32 se trouvaient à la face inférieure, soit *69,56* %,
14 à la face supérieure.

3° *Feuilles du dessus du tas.*

Mêmes observations qu'au 1° : très forte prédominance sur la face placée dessus.

Feuilles du dessous du tas.

Les périthèces se forment et se développent parfaitement bien, même en 20e position.

Pour leur localisation : mêmes observations qu'au 2° : les périthèces se forment sur les 2 faces, avec une prédominance légère sur la face placée dessus.

4° *La lumière vient uniquement par-dessous.*

Les périthèces se sont formés sur les 2 côtés de la feuille, mais avec une prédominance très forte sur la face exposée à la lumière (placée en position inférieure).

En définitive, les périthèces se forment dans tous les cas sur les 2 faces de la feuille.

A l'obscurité, la face occupant la position supérieure en possède la plus forte proportion.

La lumière joue un rôle important sur la localisation des périthèces qui sont toujours plus nombreux sur la face qui la reçoit. (En moyenne 3 périthèces sur la face exposée à la lumière pour 1 sur l'autre face.)

B. - Venturia pirina

a) Dates de formation

Les périthèces de *V. pirina* se constituent comme ceux de *V. inaequalis*, aussitôt après la chute des feuilles sur le trajet du mycélium saprophytique.

A partir du 12 octobre, des feuilles tavelées tombant naturellement de la variété Beurré Hardy ont donné des périthèces nettement individualisés au bout de 14 jours, ayant un diamètre maximum de 40 µ. Ces conceptacles, formés dans les conditions optima, sont restés superficiels car au moment de leur formation le mycélium était encore subcuticulaire. L'eau reçue par la feuille agit directement sur leur vitesse de formation. Chez *V. inaequalis*, la constitution des jeunes périthèces et les premiers stades de leur développement semblent plus rapides, dans des conditions identiques que chez *V. pirina*.

Nous constatons ici également le même échelonnement dans la formation des conceptacles. A la fin de l'hiver, alors que certains périthèces sont bourrés d'asques et d'ascospores, d'autres, beaucoup plus jeunes, se présentent à tous les stades de développement. Leur densité va donc croissant alors que

s'avance la saison hivernale. Il en résulte que les projections des ascospores, au fur et à mesure de leur maturité, constituent un danger pour la végétation pendant plusieurs mois. Cependant beaucoup de ceux qui se forment à l'arrière saison, en mars et avril, n'arrivent jamais à maturité.

b) Mode de formation

Emplacement. — *V. pirina* ne constitue pas des stromas subcuticulaires importants qui puissent servir de parois externes aux périthèces. Nous trouvons les fruits dans tout l'intérieur de la feuille, à des emplacements variés, les uns superficiels sur l'une ou l'autre des faces, les autres complètement internes. Leur origine ne diffère que par quelques détails de celle de *V. inaequalis*, elle repose également sur la différenciation d'un procarpe.

Le procarpe. — Le procarpe prend naissance sur le parcours d'hyphes végétatifs ordinaires n'ayant aucun caractère distinctif, soit sous cuticulaires, soit internes, progressant en cordons ou isolément. L'extrémité de l'hyphe mycélien se différencie. Les dernières cellules grossissent progressivement, leur membrane s'épaissit, le cloisonnement devient plus net, des gouttelettes réfringentes apparaissent, plus nombreuses et plus volumineuses. Le cytoplasme devient plus dense. La cellule terminale se distingue par ses dimensions et sa forme. Nettement plus grosse, atteignant 12 à 16 μ, elle affecte le plus souvent une forme ovoïde ou ellipsoïde.

Le procarpe constitué par les cellules terminales montre une disposition particulière à s'enrouler en hélice. De ce fait, la cellule terminale est souvent oblique par rapport à l'axe du procarpe. En coupes tangentielles, ce filament semble occuper les intervalles intercellulaires comme l'hyphe végétatif normal, mais il chemine aussi en ligne droite par-dessus les cellules épidermiques. On peut le rencontrer à l'intérieur d'une cellule, appliqué contre les parois et enroulé à la façon d'un larve vermoïde dans un cocon.

Lorsque le procarpe se différencie à l'extrémité d'un des hyphes d'un cordon mycélien, on constate que son sort n'est plus lié à celui de l'ensemble. Il s'en écarte pour devenir solitaire. A ce moment commence la segmentation de certaines cellules qui aboutit à la constitution de la membrane périthéciale. J'ai pu suivre les premiers développements de cette nouvelle activité en plaçant des coupes tangentielles épaisses entre lame et lamelle, dans une goutte d'eau stérile. Les cellules du procarpe continuent ainsi leur évolution pendant quelques temps. L'avant dernière cellule se divise activement dans tous

Fig. 42. — *V. pirina.*

a : Procarpes issus d'un cordon mycélien ; b, c, d : procarpes isolés ; e, f : enroulement en hélice ; g, h : développement des cellules recouvrantes autour de la cellule terminale ; i : prolifération en cellules isodiamétriques ; j : jeune périthèce.

les sens, donne les cellules-filles allongées qui rapidement forment une petite sphère autour de la grosse cellule interne. On peut considérer alors que le jeune périthèce est né, c'est un petit tubercule de 20 à 30 μ de diamètre.

De nombreuses modifications peuvent être apportées à ce schéma général. Parfois la cellule terminale commence à se diviser avant la formation de la membrane périthéciale, les cellules-filles se disposent régulièrement autour d'un axe, puis la prolifération des cellules du pied forme autour d'elles un ascothécium sphérique. D'autres fois, c'est la 4e ou la 5e cellule à partir de l'extrémité qui donne l'enveloppe. Celle-ci entoure alors plusieurs grosses cellules disposées en file et ne peut pas, à ses débuts, présenter une forme sphérique. Le jeune périthèce est alors cylindrique oblong, mais par son développement ultérieur il retrouvera sa forme normale. Toutes ces nouvelles cellules contiennent de nombreuses gouttelettes réfringentes.

c) Développement du jeune périthèce

A partir de ce premier stade, le développement du jeune périthèce se fait d'une façon relativement simple. Il comprend deux étapes bien définies : d'abord la prolifération des cellules internes qui amène le périthèce à son diamètre définitif, ensuite la formation des asques et la maturation des ascospores.

La division régulière de la cellule interne amène rapidement la formation d'un petit nombre de cellules à disposition isodiamétrique. C'est un stade très facile à observer, car déjà au moment où il se forme le mycélium est suffisamment teinté de brun pour permettre une décoloration progressive des cellules de l'hôte sans altérer sensiblement sa propre couleur. Certaines figures sont d'une régularité parfaite : les cellules sont rangées suivant les rayons d'une sphère dont le centre serait occupé par la cellule-mère. Le nombre des cellules augmente sans cesse, régulièrement, le diamètre du périthèce passe de 30 μ (du petit tubercule initial) à 120-160 μ. Ces cellules internes n'ont pas d'analogie avec les cellules ordinaires des hyphes végétatifs. Nettement polyédriques, de grandes dimensions, à membranes très fines, hyalines et luisantes, contenant de nombreuses sphérules réfringentes, elles délimitent avec netteté l'intérieur du périthèce. Simultanément, les cellules de l'ascothécium subissent des divisions analogues qui lui permettent de suivre l'accroissement du diamètre interne. Mais ces divisions n'intéressent pas l'épaisseur de la membrane périthéciale qui conserve presque toujours une ou deux séries de cellules. Ces cellules se caractérisent par un allongement marqué, une membrane épaisse à double paroi et une colora-

tion brun foncé virant au noir. Avant la fin du développement de ce premier stade apparaît une modification importante. A un pôle de cette sphère qu'est le périthèce — généralement celui qui reçoit le plus de lumière — certaines cellules de l'ascothécium prolongent leur activité et engendrent *le col*. C'est d'abord un petit cône constitué de cellules brunes analogues à celle de l'ascothécium. Il se développe rapidement, soulève et rompt la cuticule, apparaît à l'extérieur. Sa forme est maintenant celle d'un tronc de cône, car le col s'est pourvu d'un *ostiole*. Ce col se forme de bonne heure, dans les conditions favorables une soixantaine de jours après la chute de la feuille, et par conséquent très longtemps avant la maturité.

L'ostiole. — L'ostiole s'ouvre peu de temps après le développement du col et par conséquent encore longtemps avant la maturité du périthèce.

Il constitue un tube cylindrique de 4 μ de diamètre à peine au début, puis il s'élargit, atteint ses dimensions maxima à la maturité du périthèce.

A ce moment le périthèce, surmonté de son col, se trouve en contact avec l'extérieur par son ostiole. Le fruit sphériacéen atteint son complet développement. Les modifications à intervenir intéresseront uniquement l'appareil ascogène.

d) Influence des facteurs du milieu sur la formation et le développement des périthèces

Action de l'humidité.

1° *Sans eau liquide : uniquement l'état hygrométrique de l'air*

Les périthèces se forment lentement, marquant un net retard sur ceux qui reçoivent de l'eau. Les ébauches périthéciales sont bien reconnaissables au bout de 30 jours, les plus grosses atteignent 50 μ de diamètre. Leur développement se poursuit avec lenteur.

2° *Feuilles recevant 10 cm³ d'eau par semaine*
(sur 117 cm² de surface foliaire)

Le premier stade de développement est rapide. Au bout de 15 jours, de nombreux périthèces soulèvent les épidermes, leur diamètre maximum atteint 50 μ. Leur évolution se ralentit par la suite, alors que l'on constate une grande prolifération du mycélium interne.

3° *Conditions naturelles de pluviosité* (1947-48)

— *Feuilles tombées naturellement le 12 octobre.*

Après une lenteur bien nette au départ — expliquable par le fait que les feuilles sont restées sèches pendant 15 jours — les périthèces se forment peu à peu, principalement dans la partie centrale du mésophylle, sur le parcours du mycélium interne particulièrement abondant dans cette série. Une période de pluie précipite leur développement, en 60 jours les plus avancés ont un diamètre de 90 µ (hauteur d'eau reçue : 193 mm. 7).

— *Feuilles tombées naturellement le 11 novembre.*

Les mêmes remarques sont à faire concernant ces feuilles. Les jeunes conceptacles se sont formés lentement, puis après un mois se sont développés brusquement, atteignant un diamètre de 120 µ au bout de 65 jours (hauteur d'eau reçue : 172 mm. 1).

4° *Humidité permanente*

Au bout de 30 jours, les diamètres des ébauches périthéciales sont encore faibles et ne dépassent pas 25 µ. Une évolution rapide se déclenche brusquement, le nombre des jeunes périthèces s'accroît et leur diamètre passe, au bout de 45 jours, à une moyenne de 90 µ.

5° *Sans humidité*

Un milieu sec est nettement défavorable au développement du mycélium dont l'aspect et la position subcuticulaire ne se modifient pas. Dans ces conditions on n'observe aucune formation de périthèces.

Conclusion sur l'action de l'humidité

La formation et l'évolution des périthèces de *V. pirina* sont strictement sous la dépendance de l'humidité.

En milieu sec : aucune évolution.

Mais le champignon se montre peu exigent, il s'adapte à toutes les conditions de l'humidité qui lui sont imposées : eau apportée à intervalles réguliers ou non, doses très faibles ou considérables, humidité permanente. On peut en déduire que l'optimum est realisé pour des alternatives de pluie et de sécheresse pendant lesquelles les feuilles mortes restent plus longtemps mouillées que sèches.

Action de la température.

Trois séries d'expériences ont été faites pour tenter de dégager l'influence de la température sur la formation et le développement des périthèces de *V. pirina*.

1° *Feuilles tombées le 12 octobre.* — Les unes sont maintenues à l'extérieur où elles ont subi une moyenne de 8° 1/4 par jour, les autres à l'intérieur avec une moyenne de 12° 1/4, le tout pendant 80 jours, avec la même quantité d'eau.

La formation et les premiers stades de développement s'effectuent sans aucune différence dans les deux cas. A partir de 2 mois, l'évolution des conceptacles prend une avance très nette dans les feuilles placées à l'extérieur dans lesquelles la formation des asques a commencé au bout de 94 jours.

2° *Deux lots de feuilles :* l'un subit des alternatives de températures de 6° à 20°, l'autre de 6° à 10°.

La formation et l'évolution des périthèces ont acquis et maintenu une avance notable dans les feuilles placées entre 6° et 10°.

3° *Feuilles maintenues au frigorifique*, à la température de + 4°.

A cette température les périthèces se forment, mais leur développement est lent. Les plus avancés ont atteint un diamètre de 40 à 60 μ au bout de 90 jours.

Conclusion sur l'action de la température

La température, dans les limites 4°-20°, semble influencer très peu la formation des périthèces de *V. pirina*. Il est probable qu'ils continuent de se former à des températures inférieures à + 4°. Cependant, la rapidité de leur développement trouve un optimum autour de 8-10°. Plus on s'éloigne de ces températures, dans les deux sens, plus leur croissance et leur évolution se ralentissent.

Action de la lumière

De même que pour *V. inaequalis*, la lumière n'a aucune influence sur la formation, le développement, les dimensions ou la coloration des périthèces.

L'étude particulière de l'action de la lumière sur la localisation des périthèces dans la feuille a été faite exactement dans les mêmes conditions que pour *V. inaequalis* (voir page 105).

Résultats des expériences

1° *Feuilles placées à la lumière.*

Face supérieure dessus.

219 coupes ont présenté 476 périthèces dont :
366 à la face supérieure (proportion 76,89 %),
76 à la face inférieure (15,92 %),
34 au centre du mesophylle (7,13 %).

Face inférieure dessus.

184 coupes ont présenté 150 périthèces dont :
24 à la face supérieure (16 %),
24 au centre du mésophylle (16 %),
102 à la face inférieure (68 %).

2° *Feuilles placées à l'obscurité.*

Face supérieure dessus.

60 % des périthèces se trouvent à la face supérieure,
6 % à la face inférieure,
34 % au milieu du mésophylle.

Face inférieure dessus.

69 % se trouvent à la face inférieure,
31 % à la face supérieure.

3° *Feuilles empilées les unes sur les autres.*

Les résultats concordent parfaitement avec ceux de *Venturia inaequalis*. Les périthèces se forment bien sur les feuilles situées en dessous. Leur localisation est la même que pour toutes les feuilles placées à l'obscurité : on en compte sur les deux faces, indistinctement, sans qu'il y ait prédominance notable sur l'une ou sur l'autre. Cependant, dans l'ensemble des cas, la face placée dessus en contient le plus grand nombre. Quelle que soit leur localisation, les périthèces sont normaux et complets, ils présentent à maturité les quelques soies caractéristiques de leur genre.

4° *Feuilles recevant la lumière par-dessous.*

De même que pour *V. inaequalis*, une prédominance très marquée du nombre des périthèces se manifeste à la face exposée à la lumière, venant par-dessous.

Ce dernier cas permet de conclure sur l'action de la lumière concernant la localisation des périthèces dans la feuille.

En l'absence de lumière, les périthèces se forment et évoluent normalement sur les deux faces, avec une légère prédominance de leur nombre sur la face occupant la position supérieure.

Lorsqu'une seule face est exposée à la lumière : les périthèces se forment sur les deux faces, mais la proportion de 3 à la face exposée à la lumière pour 1 à la face maintenue à l'obscurité.

Nos deux espèces de *Venturia* se comportent d'une manière absolument identique.

3. - Les périthèces adultes

A. - Venturia inaequalis

A partir du petit tubercule initial de 40 μ de diamètre environ, le développement du périthèce comprend la multiplication puis la résorption des cellules internes, la différenciation de l'appareil ascogène, la formation des asques et la maturation des ascospores.

Les cellules internes se multiplient et amènent la formation d'un réseau de cellules de grosse taille, irrégulières, aux membranes fines et peu colorées. A la base du périthèce quelques cellules régulières gardent des dimensions plus réduites. L'ensemble de ces cellules internes se différencie nettement de l'ascothécium dont les cellules allongées sont déjà brunes. A ce stade le col apparaît, le périthèce s'ouvre sur l'extérieur. Bientôt certaines cellules, en commençant par les plus proches du col, s'arrondissent, puis s'ovalisent, s'amenuisent, se transforment en petits éléments filiformes qui eux-mêmes se segmentent et se désagrègent. La partie en transformation s'étend, gagne les cellules centrales, puis toutes les grosses cellules. En fin de compte le périthèce ne contient plus qu'une masse de gelée et les quelques cellules plus petites que les autres et situées à sa base.

En même temps des paraphyses naissent des parois internes et remplissent le périthèce de leurs longs éléments filiformes.

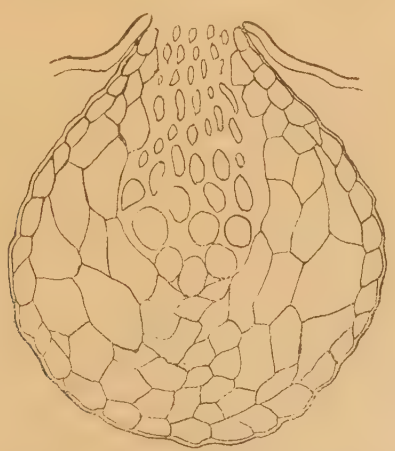


Fig. 43. — *V. inaequalis*. Début de la désagrégation des cellules internes Gr. 550.

Elles se colorent en bleu pâle par le bleu coton au lactophénol. Elles gardent de la souplesse et s'enchevêtrent un peu mais sans réel désordre. La partie supérieure du périthèce en pré- un très grand nombre.

a) L'appareil ascogène - Genèse des asques

Hyphes ascogènes. — Les cellules demeurées au fond du périthèce ont la valeur des cellules ascogoniales. Elles donnent naissance aux hyphes ascogènes. Ces hyphes sont constitués par de courts filaments, colorés intensément par le bleu coton.

La dernière cellule de l'hyphe donne naissance à l'asque. Celui-ci est, à son origine, un sac hyalin, renflé à la base, qui s'allonge rapidement entre les paraphyses. L'intérieur de l'asque comprend deux parties : une partie centrale en massue, au cytoplasme dense, d'aspect granuleux, qui s'entoure d'une membrane fibrillaire peu perceptible, et l'intervalle entre cette partie et la membrane extérieure, jaunâtre et d'aspect homogène. Les pédicelles des asques présentent des formes variables, arrondies et allongées, et un étranglement, presque toujours bien apparent, à la base de l'asque lui-même. Lorsque cette enveloppe sporale atteint 55 à 60 µ, les deux membranes sont venues en contact, le contenu cytoplasmique remplit par conséquent l'asque entier. Au fur et à mesure de ce développement des asques les paraphyses disparaissent, pour ne plus figurer en fin de compte qu'un petit nombre de filaments épars situés à la base du col. Ces derniers vestiges eux-mêmes se fondent en une gelée hyaline avant la maturité du périthèce.

Fig. 44. — *V. inaequalis*. Formation des asques à partir des hyphes ascogènes Gr. 1.000.

Fig. 45. — *V. inaequalis*. Début de la formation des asques. Nombreuses paraphyses. Gr. 550.
a : asques ; h : hyphes ascogènes ; p : paraphyses.

C'est au moment où les ascospores se forment dans l'asque qu'on voit apparaître, sur le col, les soies brunes caractéristiques du genre Venturia.

b) Les ascospores

Lorsque les deux membranes sont venues en contact après que toute le protoplasme a rempli l'asque, on commence à distinguer les petites sphères grises, noyaux issus des divisions méiotiques. Autour de ces noyaux se condense une partie du cytoplasme qui s'entoure d'une membrane fibrillaire très fine. L'ensemble est d'abord arrondi (6 µ) puis rapidement ovoïde. Le noyau se divise. Les deux noyaux fils s'écartent l'un de l'autre tandis que la jeune spore s'allonge. Un étranglement apparaît, prélude de la bipartition. Autour des noyaux le cytoplasme s'organise, se condense et remplit l'ascospore de son contenu hyalin grisâtre. La membrane s'épaissit, prend une teinte brune, en même temps la cloison se développe et sépare la spore en deux loges inégales. La couleur a passé au jaune-crème. Les jeunes spores subissent à partir de ce moment un accroissement de volume, remplissent entièrement l'asque

et font pression sur les parois. Il reste alors peu de place pour l'épiplasme très nettement visible, mais qui se dissimule dans l'intervalle laissé libre par la disposition des ascospores.

Fig. 46. — *V. inaequalis*. Evolution des asques. Gr. 550.

Fig. 47. — Différents stades de la formation de l'ascospore.

B. - Venturia pirina

a) L'appareil ascogène

La formation des asques est précédée de modifications importantes. Les cellules isodiamétriques internes arrêtent leur multiplication. Bientôt elles s'individualisent et se séparent nettement les unes des autres. En même temps leur forme se modifient ; elles s'étirent, s'atténuant à une extrémité deviennent nettement irrégulières. Peu à peu le développement de *paraphyses* les isole de l'ascothécium. Ces paraphyses épousent la forme du périthèce et présentent une plus grande densité vers le col. Ce sont des éléments simples, allongés, filiformes, hyalins, de diamètre peu variable, légèrement colorables par le Bleu coton au lactophénol. D'abord très nombreuses, enserrant les cellules internes qui se désagrègent peu à peu en commençant par le sommet, elles se fragmentent assez rapidement lors de la formation des asques puis disparaissent complètement. La formation des paraphyses constitue par conséquent un caractère fugace chez *V. pirina* ; à la maturité du périthèce, elles n'existent plus.

Fig. 48 — *V. pirina*. Hyphes ascogènes, paraphyses et jeunes asques. Gr. 550.

Les hyphes ascogènes. — L'appareil ascogène, situé à la base du périthèce, entre en activité par la production d'hyphes ascogènes. Ceux-ci se distinguent parfaitement des paraphyses par leur coloration bleu intense au lactophénol. Ils comprennent des éléments fins, dissociés sur les coupes fines, ayant un développement réduit. Leur ensemble se tient dans une cuvette de 75 μ de diamètre et de 20 μ de hauteur.

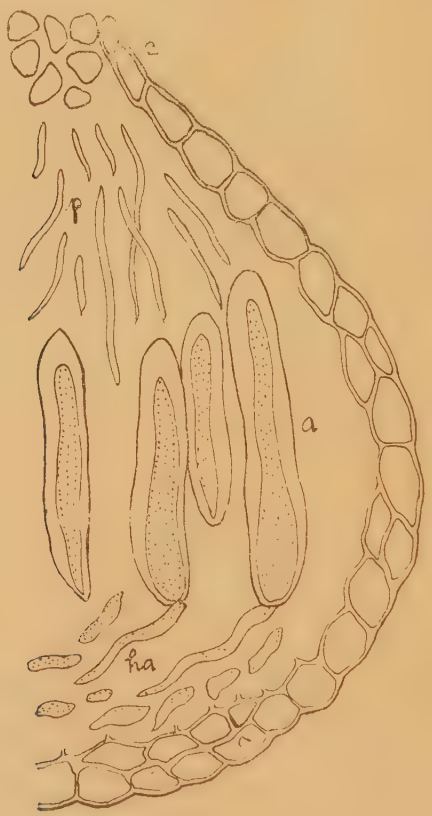


Fig. 49. — *V. pirina.* Formation des asques à partir des hyphes ascogènes.
ha : hyphes ascogènes ; a : asques ; p : paraphyses, c : cellules du col. Gr. 550.

Les asques. — Les asques se forment à l'extrémité des hyphes ascogènes. La dernière cellule de ceux-ci, qui peut être appelée cellule proascale, bourgeonne un élément allongé, presque cylindrique, un peu évasé à son origine. Le jeune asque se développe rapidement, sa forme varie un peu selon sa position dans le périthèce et en particulier sa proximité de l'ascothécium. Son contenu interne évolue. Le cytoplasme ne peut suivre le développement de la membrane externe, il s'entoure d'une membrane très fine qui le délimite très nettement. Cette partie intérieure se colore très facilement en bleu par le lactophénol, tandis que toute la zone comprise entre cette partie et la membrane externe ne subit aucune modification par le colorant. Lorsque le cytoplasme a rempli tout l'asque, les deux membranes viennent en contact sur toute leur surface. A ce moment, on constate des concentrations autour de certains points, les noyaux issus des mitoses méiotiques où se dessinent les formes cylindro-oblongues des jeunes ascospores. L'asque mesure alors, en moyenne, 50 µ de long et 8-12 µ de diamètre. C'est un tube, arrondi au sommet, atténué ou évasé à la base et fréquemment dilaté au niveau d'un coude. Sa membrane externe reste fine mais prend une coloration de plus en plus foncée qui la rend facile à observer.

Lors de cette génèse des asques, les paraphyses disparaissent peu à peu, en commençant par celles du milieu. Lorsque le bouquet d'asques, comprenant des éléments à tous les stades d'évolution occupe la majeure partie du périthèce, les paraphyses n'existent plus qu'au sommet, à l'entrée du col, sous forme d'articles courts et fins, indépendants les uns des autres. Elles disparaissent complètement avant la maturité des ascospores pour former à l'intérieur du périthèce une gelée hyaline. A ce moment le col du périthèce se garnit de quelques soies

Fig. 50. — *V. pirina.* Différents stades du développement des asques. Gr. 550.

caractéristiques. Une des cellules apicales du col bourgeonne en donnant tout de suite un élément sétiforme brun, régulier, qui s'allonge rapidement pour atteindre ses dimensions définitives de 40 à 60 µ. Le périthèce peut présenter ainsi de 1 à 6 soies.

b) Les ascospores

La délimitation des ascospores intervient lorsque l'asque a atteint un peu plus de la moitié de sa longueur définitive. Dans tout l'intérieur du sac interne, des concentrations de cytoplasme s'individualisent en petites masses oblongues, disposées dans l'asque suivant leur grande dimension, qui se délimitent peu à peu par une membrane d'abord fibrillaire. Chacune des jeunes ascospores se pourvoit aussitôt de deux gouttelettes réfringentes, situées uniformément à chaque extrémité.

Les spores grossissent aux dépens de l'épiplasme, mais d'une façon irrégulière, la partie basale change peu, tandis que l'ascospore s'enfle surtout vers son milieu et sa partie supérieure. La membrane est alors continue et nette. Les gouttelettes réfringentes disparaissent. Le cloisonnement commence et sépare la spore en deux loges inégales, la plus petite étant toujours placée vers la base de l'asque (disposition contraire chez *V. inaequalis*). Pendant ce temps l'asque continue de s'allonger pour atteindre 60 à 100 µ. La disposition des ascospores dans l'asque se fait toujours suivant une seule ligne. Cependant lorsque, par manque de place, l'asque n'a pu se développer suffisamment en longueur, il s'élargit, les ascospores s'entassent alors surtout au niveau du coude où elles se présentent sur deux lignes. Au moment de la maturité, la spore du sommet de l'asque se présente longitudinalement, la grande loge faisant pression sur l'extrémité du sac interne, prête à la projection. La couleur des ascospores a passé du hyalin au jaune crème.

c) Déhiscence de l'asque

La déhiscence des asques se fait d'une façon absolument analogue chez les deux *Venturia*.

La double membrane qui constitue l'asque implique un double système de déhiscence pour la libération des ascospores. Cette libération peut s'observer assez facilement en utilisant la technique suivante. Sur une feuille où l'on a observé un grand nombre de périthèces parvenus à maturité, légèrement mouillée, on prélève au scalpel un frottis qui est immédiatement placé entre lame et lamelle. On repère quelques rosettes

d'asques et quelques asques isolés. La projection des ascospores peut commencer très peu de temps après.

Nous devons d'abord faire deux constatations essentielles :

— La déhiscence ne se produit qu'après une absorption d'eau ;

— Les deux enveloppes ne cèdent pas simultanément à la pression interne.

Les différentes opérations se passent rapidement dans l'ordre suivant :

1° Par turgescence, allongement de l'asque qui atteint 120 μ en moyenne. A ce moment les ascospores se disposent en file allongée, prêtes pour la sortie.

2° Le sac externe cède à sa partie apicale. Aussitôt après cette rupture, il se rétracte et prend ses dimensions initiales autour du sac interne qui le dépasse de 40 μ environ.

3° La première spore fait pression à l'extrémité de l'enveloppe interne. Le pore apical laisse brusquement passage à cette spore qui est expulsée dans un mouvement très rapide, tandis que les coussinets sous-apicaux se resserrent immédiatement, à la manière d'un sphincter.

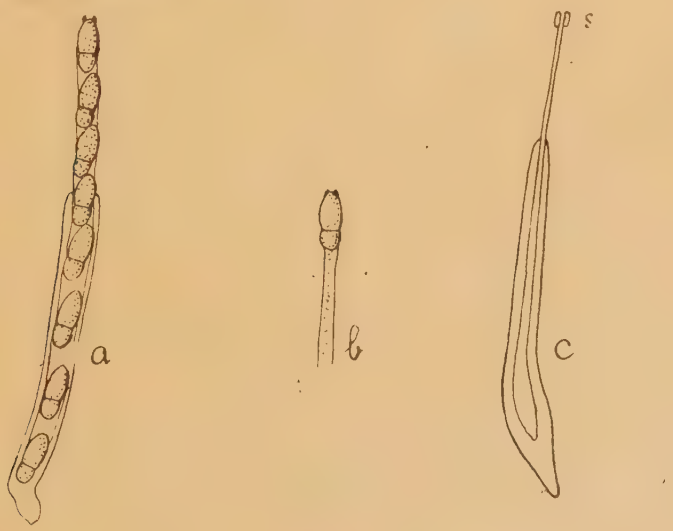


Fig. 51. — *V. pirina*. Déhiscence de l'asque. a ; sortie du sac interne ; b : la dernière spore à l'extrémité du sac ; c : asque vide ; s : coussinets sous-apicaux. Gr. 550.

4° L'expulsion des autres spores s'effectue alors très rapidement, selon un processus uniforme. Une spore se présente au niveau du pore apical, marque un temps d'arrêt (une fraction de seconde) puis est projetée violemment. Le sac se referme à nouveau tandis que la spore suivante monte au sommet.

On constate que la force de projection diminue au fur et à mesure que l'asque se vide. Et il arrive parfois que la dernière spore qui parcourt plus de 100 µ pour arriver au sommet du sac interne ne trouve plus une pression suffisante pour être projetée. Elle reste donc à l'extrémité de l'asque vide et flétri.

5° Après cette émission, qui dure 5 à 10 secondes (généralement un peu moins chez *V. inaequalis*), l'enveloppe interne se réduit à un tube fin, hyalin, flétri. Son extrémité se referme mais laisse voir nettement les coussinets sous-apicaux qui semblent jouer dans la projection le rôle de sphincters.

D'après la constitution du sommet de leurs asques et leur mode de déhiscence, *V. inaequalis* et *V. pirina* se classent dans les Ascomycètes *inoperculés*.

C. - Influence des facteurs du milieu sur la maturation des périthèces des deux Venturia

L'influence des facteurs du milieu sur la maturation des périthèces et des ascospores a fait l'objet d'études diverses, surtout à l'étranger. Wilson (1928) estime que la maturation des périthèces dépend directement de la date de chute de la feuille.

Hocquey (1928) attribue une grande importance à la disposition des feuilles sur le sol.

Holz (Allemagne) a remarqué que la somme des températures depuis le 1er mars jusqu'à la maturité des périthèces atteint 105°, les températures des mois de mars et avril auraient donc une influence capitale.

Howit et Evans pensent au contraire que les moyennes des températures de janvier, février et mars ont la plus grande influence.

En France, Schad indique « qu'à Clermont-Ferrant, il n'y a aucun rapport entre la somme des températures indiquée par Holz et celle observée ». Il ajoute : « Les pluies de mars et avril ont une grande importance sur la précocité de la maturité. »

Darpoux (1943) constate que l'influence du milieu sur la biologie des parasites (les *Venturia*) a surtout été étudiée pour le pommier. Il semble, dit-il, que pour le poirier elle soit à peu près la même.

L'influence des facteurs du milieu sur la maturité des périthèces, qui a été surtout étudiée pour *V. inaequalis*, reste discutée et imprécise. Les nombreuses lacunes laissées dans cette étude témoignent de la grande difficulté qu'elles présentent. J'ai tenté d'y apporter quelques précisions par de très nombreuses expériences et observations s'étendant sur 4 années. Mais il ne faut pas attacher trop de rigueur aux chiffres et aux dates cités. Comment, en effet, peut-on conclure avec certitude que les premières ascospores observées sur des feuilles données, d'une variété donnée, sont bien les premières formées dans la région ? Nous savons que leur formation est échelonnée et dépend essentiellement de la date de chute des feuilles et de la fréquence des pluies, deux facteurs essentiellement variables. Nous pourrions renouveler cette remarque à propos de la projection des ascospores ; les premières spores observées sur les lames vaselinées, après de patientes et longues observation sont-elles effectivement les premières projetées ? Ajoutons cependant que les erreurs inévitables ainsi commises doivent être faibles et n'altèrent en aucune manière les idées générales concernant l'influence des facteurs du milieu sur la maturité dees périthèces. J'ai étudié successivement l'action de l'eau, de la température, de la variété du pommier et du poirier, et de la date de chute des feuilles.

1°) Action de l'humidité

Les hauteurs de pluie ont été notées depuis *la chute naturelle des feuilles* qui sont maintenues sous grillage jusqu'à l'apparition constatée des ascospores et leurs premières projections. (Certains auteurs ont pris systématiquement comme point de départ la date du 1er novembre ; il m'a paru plus logique de prendre les champignons au moment précis où ils commencent leur phase saprophytique.)

DATE de chute des feuilles	Apparition des ascospores			Premières projections des ascospores				
	DATES	Nombre de jours depuis la chute	Haut. d'eau	DATES	Nombre de jours dep. apparition	Haut. eau dep. apparition	Nombre de jours depuis la chute	Haut. d'eau depuis la chute
1 Nov. 1944.	25 Mars 1945.	146 j.	331 mm	26 Avril 1945.	32 j.	7 mm	178 j.	338 mm
8 Nov. 1945.	18 Mars 1946.	140 j.	274 mm	18 Avril 1946.	30 j.	44 mm	170 j.	318 mm
10 Déc. 1946.	16 Fév. 1947.	68 j.	114 mm	3 Avril 1947.	46 j.	127 mm	114 j.	241 mm
12 Oct. 1947.	14 Janv. 1948.	92 j.	243 mm	16 Mars 1948.	61 j.	85 mm	153 j.	328 mm

Le deuxième tableau donne des indications concernant 4 cas particuliers de l'hiver 1947-1948.

DATE de chute des feuilles	Apparition des ascospores			Premières projections d'ascospores				
	DATE	Nombre de jours	Haut^r eau	DATE	Nombre de jours dep. apparition	Haut^r eau	Nombre de jours depuis la chute	Haut^r eau
12 Oct. 1947.	Arrosages artificiels toutes les semaines			7 Avril 1948.			175 j.	13 mm
11 Nov. 1947.	1 Mars 1948.	110 j.	218,7 mm	14 Avril 1948.	44 j.	56 mm	154 j.	304,7 mm
3 Nov. 1947.	2 Mars 1948.	119 j	256 mm	30 Mars 1948.	28 j.	9,2 mm	147 j.	265,2 mm
1 Fév. 1948.	Feuilles du 12 oct. gardées jusqu'à cette date en herbier.			30 Avril 1948.			90 j.	48,7 mm

Conclusion

Concernant l'apparition des ascopores. — Le nombre de jours écoulé depuis la chute des feuilles est très variable et n'a aucun rapport avec un chute précoce ou tardive. La somme des hauteurs de pluie varie dans de très grandes limites qui font écarter immédiatement toute idée d'une somme constante depuis la chute des feuilles jusqu'à l'apparition des ascospores.

Concernant la projection des ascospores. — Le nombre de jours écoulés depuis l'apparition des ascospores jusqu'à leur projection va de 28 à 61 jours, et de plus grandes variations sont sans doute possibles.

De même le nombre de jours écoulés depuis la chute des feuilles jusqu'aux premières projections ne présente aucun chiffre moyen susceptible d'être retenu comme une constate.

La somme des hauteurs d'eau reçues par les feuilles varie encore dans de plus fortes proportions.

Que penser alors de l'influence de l'eau sur la maturité dese périthèces ?

Les chiffres donnés au deuxième tableau (12 octobre 1947 : 13 mm. ; et 1^er février 1948 . 48 mm. 7) nous montrent qu'il suffit d'une très faible somme pour atteindre la maturité. *Ce qui importe, ce n'est pas la somme des hauteurs d'eau, mais la périodicité des pluies.* Les pluies tombant par intervalles réguliers et rapprochés sont les plus favorables. Le cas déjà cité est remarquable : 13 mm. d'eau seulement du 12 octobre au 7 avril, mais cette eau fut distribuée à raison de 0 mm. 85 par semaine, et les feuilles restèrent humides pendant 48 h. environ grâce à un couvercle qui retardait l'évaporation.

En considérant par conséquent les hauteurs des chutes d'eau depuis le début de la phase saprophytique des *Venturia*, il est impossible de prévoir les dates de maturité des périthèces.

2°) Action de la température.

L'influence de la température sur la maturité des périthèces peut se dégager d'après les tableaux suivants :

DATE de chute des feuilles	Apparition des ascospores		Emission des ascospores		Somme des températures depuis la chute des feuilles
	DATE	Somme des températ^es	DATE	Somme des températures dep. apparition	
1 Nov. 1944.	25 Mars 1945.	909°	26 Avril 1945.	321°	1.240°
8 Nov. 1945	18 Mars 1946.	820°	18 Avril 1946.	267°	1.087°
10 Déc. 1946.	16 Fév. 1947.	375°	3 Avril 1947.	340°	715°
12 Oct. 1947.	14 Janv. 1948.	604°	16 Mars 1948.	343°	947°

Le deuxième tableau donne des renseignements concernant des cas particuliers de l'hiver 1947-1948 :

DATE de chute des feuilles	Apparition des ascospores		Emission des ascospores		Somme des températures depuis la chute des feuilles
	DATE	Somme des températ^es	DATE	Somme des températures dep. apparition	
12 Oct. 1947.	Arrosages artificiels toutes les semaines		7 Avril 1948.		1.143°
11 Nov. 1947.	1 Mars 1948	526°	14 Avril 1948.	351°	877°
3 Nov. 1947.	2 Mars 1948.	608°	30 Mars 1948.	227°	835°
1 Fév. 1948.			30 Avril 1948.		620°

L'examen de ces chiffres autorise à penser que, dans la nature, il n'existe pas de rapport entre la somme des températures reçues depuis la chute des feuilles jusqu'à l'apparition des ascospores ou leur projection ; les chiffres varient dans de trop fortes proportions. La somme des températures comprises entre la date d'apparition des ascospores et la date de leur émission subit des variations aussi marquées si l'on considère qu'elle s'étend sur un nombre de jours beaucoup plus restreint.

Il existe en réalité une action combinée de l'eau et de la température sur la maturité des périthèces. Mais l'influence de la température reste toujours faible, et ne prend jamais le

caractère d'un élément déterminant, du moins dans les limites qui ont pu faire l'objet de ces études. Le facteur capital, agissant directement sur la maturité des périthèces, reste *la périodicité des pluies*.

3°) Influence de la variété

Matériel. — Des feuilles lavelées, provenant de variétés très sensibles à la maladie et tombant naturellement, sont placées sous grillage le 10 octobre.

Pommier. — Teint Frais, Bismarck, Calville blanc et une variété à cidre.

Poirier. — Beurré Hardy, Beurré Diel, William's, Doyenné Sterkmann, Beurré Six et Beurré Bachelier. Les coupes faites aux mêmes dates ont permis de suivre l'évolution des périthèces jusqu'à la libération des ascospores.

Résultats. — Les résultats sont parfaitement concordants pour les deux espèces.

L'évolution interne du mycélium — vitesse de pénétration, abondance des hyphes internes, coloration et dimensions — ne subit aucune modification d'une variété à une autre.

A tout moment de la phase saprophytique, les périthèces se trouvent au même stade de développement. Les ascospores apparaissent simultanément dans les différentes variétés et les projections, dans la nature, ont eu lieu à la même date.

Ces expériences, répétées sur trois années, permettent de conclure que la variété de pommier ou de poirier ne semble pas intervenir dans la marche du développement saprophytique des *Venturia* et en particulier dans la maturité des périthèces.

4°) Influence de la date de chute de la feuille.

Les feuilles tombant naturellement le 20 septembre, le 5 octobre, le 3 novembre et le 11 novembre, sont placées, sous grillage, en contact avec le sol. Variété de pommier : Teint Frais ; variété de poirier : William's.

Les résultats sont identiques pour les deux espèces. Nous savons que la pénétration interne du mycélium et la formation des jeunes périthèces débutent aussitôt après la chute de la feuille. Au début nous constatons, en conséquence, une avance très nette dans les feuilles les premières tombées. Cette avance diminue peu à peu au cours de l'hiver et au début du printemps les périthèces se trouvent, à peu de chose près, au même stade.

Voici quelques résultats suggestifs :

(Les feuilles sont numérotées : 1 (20 sept.) 2 (5 oct.), 3 (3 nov.), 4 (11 nov.).

14 JANVIER :

Mycélium :

Semblable dans les 4 lots, sauf la coloration qui va du clair au foncé dans l'ordre 1, 2, 3, 4.

Périthèces :

Diamètre : le même dans les 4 cas ;
Nombre : par ordre décroissant 1, 2, 3, 4.
Evolution : par ordre décroissant 1, 2, 3, 4.

8 FÉVRIER :

Mycélium :

Aucune différence dans les 4 lots.

Périthèces :

1 et 2 : possèdent des asques, pas d'ascospores ;
3 et 4 : ne possèdent pas d'asques.

2 MARS :

Périthèces :

1 : ascospores normales, uniseptées ;
2 : ascospores en formation (mais pas de septum);
3 et 4 : apparition des asques, pas d'ascospores.

16 MARS :

1 et 2 : émission d'ascospores ;
3 et 4 : ascospores en formation.

30 MARS :

Emission d'ascospores dans les 4 lots, après une grosse pluie. Le n° 3 a donné le plus grand nombre de spores.

Nous constatons donc une avance dans la maturité des périthèces chez les feuilles les premières tombées : mais elle se chiffre seulement par 14 jours pour une différence de 52 jours au départ. Cette avance est peu importante par rapport au nombre de jours qui sépare les dates de chute des feuilles, mais lorsqu'il s'agit de prévenir, par des traitements, les contaminations primaires déterminées par les premières projections d'ascospores, cette avance revêt une importance capitale.

II. - Caractères biologiques des parasites

1. - Libération des ascospores

La libération des ascospores de *V. pirina* et de *V. inaequalis* a été étudiée en France par Schad, à la station d'amélioration des plantes du Massif-Central en 1938, 39, 40, et par Darpoux, à Bordeaux, en 1941, puis à Versailles.

Antérieurement, à l'étranger, des études furent entreprises en particulier pour déceler les périodes d'infections primaires de la tavelure du pommier, attribuées aux ascospores. Aderhold avait noté que les spores pouvaient être projetées à 1 cm. 5. Schneiderhan et Fromme (1922) montrèrent le rôle de la pluie dans l'émission des ascospores. Frey et Keitt, dès 1917, déterminaient les dates de projection et précisaient leur travail pendant les années suivantes. Jehle et Hunter ont fait le même travail en 1928, dans le Maryland.

En Angleterre, Salmon et Ware (à partir de 1924) firent les mêmes études pour déterminer les projections des ascospores et prévoir par conséquent les contaminations primaires.

Wallace a calculé le nombre de spores projetées par 1 cm² de feuilles en 45 minutes (5.630 spores). Keitt et Jones (1925) ont conservé des périthèces mûrs du 25 mai au 16 novembre 1923, les ascospores ont germé au bout de ce temps dans la proportion de 90 % dans l'eau distillée.

La projection des ascospores de *V. Pirina* a été étudiée par Aderhold, 1896 ; Salmon et Ware en 1925 ; Putterill, 1922 (dans la province du Cap). D'après Curtiss, l'eau est indispensable pour la sortie des ascospores ; d'après Frey et Keitt l'humidité atmosphérique est insuffisante. Schad a également constaté que de 1938 à 1941 les émissions n'ont eu lieu qu'après une pluie. La durée d'émission au Massif Central s'étend, en 1938, du 1er mai au 31 mai ; en 1939, du 24 avril au 12 mai ; en 1940, du 16 avril au 31 mai.

Technique. — Pour étudier la projection des ascospores, aussi bien dans la nature qu'au laboratoire, j'ai utilisé seulement la méthode des lames vaselinées. Des feuilles contenant des périthèces sont maintenues sur le sol par un grillage fin ; des lames très peu vaselinées sont disposées au-dessus de ces feuilles et à 2-5 mm. Les ascospores projetées avec force viennent se coller sur ces lames. Pour connaître l'importance d'une projection, cette méthode doit être un peu modifiée. Les ascospores sont projetées par la pluie uniquement mais il suffit de très peu d'eau. Avant de placer les lames on attend que la pluie

ait bien mouillé toutes les feuilles, la projection commence peu de temps après. Les lames, relevées à des intervalles réguliers, permettent de préciser le temps au bout duquel commence l'émission, ainsi que son importance au cours de la pluie et après la fin de la pluie.

Des auteurs américains ont préféré à ce procédé celui de la filtration de l'air d'un verger ; cette méthode a effectivement l'avantage de déterminer le nombre de spores contaminantes qui arrivent au contact des différentes productions du pommier et du poirier, mais elle demande des manipulations plus longues et moins commodes.

La projection des ascospores n'a révélé, au cours des quatre années d'études, aucune différence entre les deux espèces de *Venturia*. Les émissions, à commencer par la première, ont lieu aux mêmes dates, sous les mêmes influences. Leur importance relative peut également se comparer en tous points. Pour abréger cet exposé, j'ai donc été amené à confondre les projections d'ascospores des deux *Venturia* et à présenter le pénomène sous forme de tableaux mentionnant la date des pluies avec, en regard, la date et l'importance des projections.

A. - Dans la nature

1°) Dates et importance des projections

1945

Date de la pluie	*Date de la projection*	*Importance*
nuit 25 au 26 avril	26 avril	peu importante
20 mai	20 mai	»
20 au 24 mai	20 au 25 mai	»
28 mai et nuit 28-29	28 et 29 mai	plus importante
19 juin (grand orage)	19 et 20 juin	importante
9 juillet	10 juillet	assez importante
25 juillet	25 juillet	importante

1946

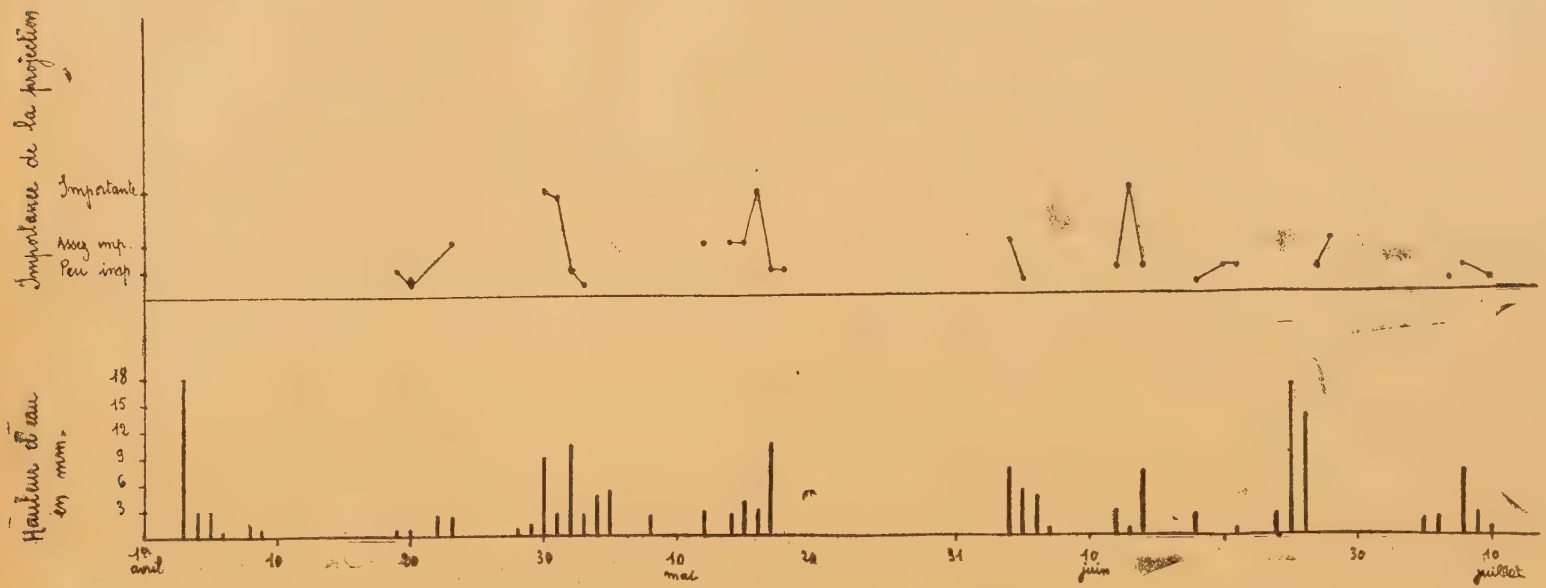
17 et 18 avril	17 et 18 avril	peu importante
7 mai (orage)	7 et 8 mai	très importante
11 mai et 11 au 12	12 mai	»
12 et 13 mai	13 et 14 mai	importante
18 et 19 mai	18 à 20 mai	peu importante
21 mai	pas de projection	
21 au 31 mai (alternatives de pluie et beau temps)	très peu d'émission d'ascospores	très peu d'importance

1947

3 avril	3 avril	assez importante
6 avril	6 avril	peu importante
19 avril	19 avril	peu importante
20 avril	20 avril	très peu importante
23 avril	23 avril	assez importante
30 avril	30 avril	importante
1er mai	1er mai	importante (mais moins que la veille)
2 mai	2 mai	encore moins impor
3 mai	3 mai	. très rares spores
4 mai	néant	
5 mai	néant	
8 mai	néant	
9 mai	néant	
12 mai	12 mai	assez importante
14 mai	14 mai	»
15 mai	15 mai	»
16 mai	16 mai	importante

Date de la pluie	*Date de la projection*	*Importance*
17 mai	17 mai	peu importante
18 mai	18 mai	«
4 juin (orage)	4 juin	assez importante
5 juin	5 juin	très faible
6 juin	néant	
12 juin	12 juin	peu importante
13 juin	13 juin	importante
14 juin	14 juin	peu importante
18 juin	18 juin	très peu importante
20 et 21 juin	21 juin	peu importante
27 juin (orage 6 à 9 h.)	néant	
orage de 19 à 20 h.	27 juin	peu importante
28 juin (violent orage)	28 juin	assez importante
6 juillet	néant	
7 juillet	4 juillet	très faible
8 juillet	néant	
9 juillet	9 juillet	peu importante
10 juillet	10 juillet	très faible émission
16 juillet (orage)	néant	
17 juillet	néant	

— A partir de cette date, plus de projections d'ascospores.



Projection des ascospores : 1947. Dates et importance de la projection en fonction de la date et de l'importance de la pluie. **Les** traits continus indiquent la continuité dans l'émission.

1948

15-16 mars	16 mars	assez importante
29 à 31 mars	29 à 31 mars	importante
1er avril	1er et 2 avril	assez importante
4 à 9 avril	4 à 9 avril	importante
17 et 20 avril	17-20 avril	assez importante
1er-5 mai	1er-5 mai	très importante
16 mai	16 mai	importante
17 mai	17 mai	assez importante
23 mai	23 mai	assez importante
24 mai	24 mai	peu importante
25 mai	25 mai	très peu importante
29 mai	29 mai	très faible projection
30 mai	30 mai	id.
1er juin	1er juin	très faible
2 juin	pas de projection	
3 juin	»	
5 juin	»	
8 juin	8 juin	faible projection
9 juin	9 juin	id.
13 juin	13 juin	assez importante
19 juin	19 juin	assez importante
24 juin	24 juin	importante
	25 juin	assez importante
27 juin	27 juin	peu importante
28 juin	28 juin	très peu importante

Il apparaît, d'après ces résultats, que les projections d'ascospores constituent un danger pour le pommier et le poirier depuis le débourrement jusqu'en plein cœur de l'été ; les dates extrêmes constatées s'échelonnent en effet du 16 mars au 25 juillet. En France, il n'a pas encore été signalé de dates aussi précoces ni aussi tardives. Les différents auteurs ont arrêté les projections en fin mai ; elles continuent en réalité durant tout le mois de juin et une partie du mois de juillet, ajoutant leurs contaminations à celles des conidies secondaires en activité depuis le début mai. D'autres remarques sont à formuler. Lors d'une période pluvieuse, l'ordre d'importance des projections va décroissant depuis le premier jour de pluie jusqu'au dernier. Très fréquemment, d'ailleurs, le nombre de périthèces mûrs est épuisé au cours des premières pluies, les projections s'arrêtent malgré la persistance de la pluie, pour ne reprendre qu'après une période de repos de quelques jours.

Enfin, les plus importantes projections se placent dans la région de l'Ouest dans la deuxième quinzaine d'avril et première quinzaine de mai, période qui constitue par conséquent la phase de grande contamination, la température moyennement élevée permettant une germination rapide des ascospores.

2°) Causes qui agissent sur les projections

L'eau. — Les projections d'ascospores sont toujours déclenchées par la pluie. Malgré de très nombreuses observations, il ne m'a jamais été donné de constater d'émissions en dehors des périodes pluvieuses. Les rosées, si fréquentes dans notre région, ne suffisent pas, l'eau liquide est indispensable. Mais une très faible quantité d'eau peut déclencher la projection. Une petite bruine, mouillant à peine les feuilles, suffit si les périthèces sont arrivés à maturité depuis quelque temps. Par contre, elle peut s'avérer insuffisante si les périthèces mûrs ont été épuisés par une pluie antérieure de peu de jours.

Lors d'un arrosage hebdomadaire d'un lot de feuilles mouillées artificiellement, une projection a été constatée le 7 avril, la hauteur d'eau pulvérisée sur les feuilles représentait seulement 0,85 mm.

Cependant les grosses pluies et en particulier les pluies d'orages provoquent, à la même époque, les plus fortes projections. Cela peut s'expliquer par le fait qu'elles désorganisent les tissus foliaires, dégageant ainsi les périthèces qui sont également altérés ; les asques, souvent mis à nu, sont détruits et les ascospores libérées. Sur les lames vaselinées qui les recueillent, on peut reconnaître un grand nombre d'ascospores jeunes qui ne sont pas encore mûres pour la germination.

La projection commence très peu de temps après le début de la pluie. Le 1er avril, les premières gouttes d'une pluie d'orage tombent à 17 h. 20. A 17 h. 35 les lames vaselinées portent déjà un nombre assez élevé de spores. Au bout de 30 minutes la projection atteint son importance maximum, reste stationnaire pendant 1 h. 1/2 environ, puis décroît par la suite. Mais il ne faut pas attacher trop de rigueur à ces chiffres. L'importance d'une projection croît parfois au cours d'une pluie pour devenir maximum au bout de 2 à 3 heures, même davantage ; il semble que cela dépende surtout de l'état de maturité des périthèces au moment de la pluie. La projection peut continuer après la fin de la pluie, pendant tout le temps que les feuilles restent mouillées. Cela se produit surtout lorsque la pluie est brève et qu'elle est suivie d'un temps très calme avec un état hygrométrique élevé. Ainsi, le 1er avril, une pluie continue se chiffrant par 3,3 mm. a provoqué une importante projection d'ascospores. Le 2 avril, le temps est très gris et très humide, mais pas de précipitation. Des ascospores ont pourtant été recueillies sur les lames, en petit nombre, soit 24 heures après la pluie de la veille.

La température. — Dans la nature, je n'ai pas fait d'observations qui puisse faire penser à une action de la température sur les projections, que ce soit sur le seuil des projections, sur leur importance ou sur leur durée. Les faibles variations des températures, au moment des chutes des différentes pluies, peuvent être incriminées ; en tous cas, une vérification expérimentale au laboratoire s'impose.

B. - Au laboratoire

Les études de la projection au laboratoire ont permis de préciser et de compléter les observations faites dans la nature et en particulier de déterminer l'influence de la quantité d'eau et de la température sur le seuil de la projection.

Deux procédés ont été utilisés pour provoquer les projections.

Premier procédé. — Les feuilles ou plutôt des morceaux de feuilles sont placés directement sur de l'ouate ou du buvard maintenus bien humides.

Deuxième procédé. — Les morceaux de feuilles sont immergés dans l'eau pendant un temps déterminé, puis disposés sur du buvard légèrement humide.

Dans les deux cas, des lames très légèrement vaselinées ou simplement mouillées sont placées à 2 mm. au-dessus des feuilles.

Le deuxième procédé m'a toujours donné les meilleurs résultats.

1°) Influence de la quantité d'eau

Des lambeaux de feuilles présentant un grand nombre de périthèces sont immergés de la façon suivante :

1er lot : passé dans l'eau, durée 2 secondes.

2e lot : immersion 1 minute.

3e lot : immersion 5 minutes.

4e lot : immersion 10 minutes.

La projection des ascospores a eu lieu au bout des temps suivants :

1er lot : 47 minutes.

2e lot : 50 minutes.

3e lot : 48 minutes.

4e lot : 51 minutes.

2°) Influence de la température sur le seuil de la projection

Des carrés découpés dans une feuille, immergés pendant le même temps, sont aussitôt placés à des températures différentes . 5°, 10°, 15°, 20° 25°.

Les résultats sont les suivants :

5° : 40 minutes.

10° : 36 minutes.

15° : 48 minutes.

20° : 45 minutes.

25° : 55 minutes.

Dans un autre essai, les résultats sont identiques :

à 10° : 30 min. projection assez importante.

15° : 30 min. projection très importante.

20° : 30 min. projection assez importante.

25° : 30 min. projection importante.

(Mais ces chiffres sont essentiellement variables. Ils dépendent surtout de la quantité de périthèces arrivés à maturité et de la date de la dernière projection).

3°) Hauteur de la projection

Les lames vaselinées sont maintenues à des distances précises des carrés de feuilles qui au préalable ont été immergés pendant 5 minutes.

A 2 mm. : la projection est maximum.

A 5 mm. : elle est très importante.

A 1 cm : quelques rares spores atteignent la lame.

A 1 cm. 5 : aucune spore n'a été relevée sur les lames.

4°) Durée de la projection

Les feuilles sont immergées 10 minutes dans l'eau, puis maintenues dans une boîte de Pétri, à la température de 12°. Au bout de 1 h. 1/2, les lames vaselinées sont couvertes d'un nombre considérable d'ascospores.

D'autres lames placées alors ne contiennent qu'un petit nombre d'ascospores au bout de 1 heure (2 h. 1/2 après l'immersion).

Une troisième série de lames, placées à ce moment, contenaient encore quelques spores au bout de 12 heures.

Puis les lames sont encore changées. Les feuilles ont conservé un peu d'humidité nettement apparente.

Après 12 heures (24 heures après l'immersion des feuilles) les lames contiennent un grand nombre de spores disposées en paquets importants.

Après 24 heures, aucune projection n'a été observée.

Les dernières ascospores recueillies, mises à germer dans l'eau de pluie, ont donné, au bout de 6 heures, des tubes germinatifs atteignant 16 μ, et, au bout de 24 heures, un enchevêtrement d'hyphes de 60 μ de long.

On peut en déduire que les projections d'ascospores peuvent se produire jusqu'à 24 heures après que les feuilles ont été mouillées et qu'elles constituent à ce moment le même danger pour les organes réceptifs des arbres.

5°) Quantité de spores projetées

J'ai découpé dans des emplacements de grande densité de périthèces, des carrés de feuilles de 0,25 cm² de surface ; ils sont immergés pendant 5 minutes, puis disposés sur buvard légèrement humide. Des lames vaselinées, placées à 2 mm. de haut, recueillent les spores ; elles sont déplacées fréquemment pour permettre un étalement des ascospores et un comptage plus facile. Au bout de 24 heures la projection est terminée.

Les chiffres suivants — les plus élevés — ont été relevés :

V. pirina : de 7.000 à 8.000.

V. inaequalis : 4 à 5.000.

(Il a été impossible d'obtenir une plus grande précision dans le comptage.)

Ces chiffres sont très élevées et dépassent de beaucoup ceux qui ont été cités par Wallace. Mais ils n'étonnent nullement. Chaque périthèce peut contenir plus d'une centaine d'asques et par conséquent environ 1 millier de spores. Or, 1 cm² de feuille morte, dans les zones de grande densité, présente plusieurs dizaines de périthèces. On conçoit, dès lors, que les chiffres cités sont relativement faibles par rapport à ceux qu'on pourrait obtenir dans certaines conditions spéciales de maturité simultanée de tous les périthèces.

Ces innombrables spores germent dans la proportion de 90 à 100 % si elles se trouvent dans les conditions favorables d'humidité et de température.

6°) Les périthèces après la projection des ascospores

Au laboratoire, lorsque les feuilles sont très peu mouillées, le gonflement des asques se fait lentement et progressivement. La pression interne développée dans chaque asque se modifie peu à peu, provoquant un mouvement des asques à l'intérieur des périthèces, et un mouvement des ascospores à l'intérieur des asques.

Les asques se chassent mutuellement dans l'espace libre du col et sortent lentement, en file. Ce n'est qu'ensuite que les ascospores seront libérées suivant le mode décrit précédemment. Mais ce mouvement ordonné ne dure pas longtemps, bientôt le périthèce éclate et tous ses asques sont libérés à la fois, l'émission des ascospores commence presque aussitôt, rapide et continue.

Dans la nature, il n'existe guère de sortie des ascospores par l'ostiole. Nous avons donc là le cas d'un organe qui, dans les conditions naturelles, ne possède plus de fonction. Les pluies se révèlent toujours suffisantes pour provoquer une turgescence rapide des asques et développer à l'intérieur du périthèce une pression qui le fait éclater. Ceci se fait d'autant plus facilement que les tissus de la feuille morte sont toujours plus ou moins désagrégés et n'offrent qu'une faible résistance à l'éclatement du périthèce.

Les coupes en série pratiquées dans les lambeaux de feuilles ayant libéré leurs ascospores ne présentent jamais de périthèces vides, mais seulement la partie basale de l'ascothécium incluse profondément dans le mésophylle. Parfois même il ne reste rien du périthèce, surtout après les violentes pluies d'orage qui désorganisent les tissus foliaires.

2. - Germination des ascospores

A. - Venturia inaequalis

a) Sur milieux liquides

Les ascospores de *V. inaequalis* germent facilement dans les milieux liquides en goutte pendante et le développement des jeunes filaments s'y poursuit d'une façon satisfaisante.

Eau distillée stérilisée.

Après 12 heures, on constate, sur ce milieu, un excellent départ de la germination. Au bout de 12 heures, 90 % des spores germent, dont 70 par la grande loge, 15 par la petite et 5 par les deux. Les filaments atteignent 35 µ. La germination est subterminale ou ventrale.

Après 24 heures, on obtient fréquemment 100 % de germinations dont, en moyenne, 42 par la grande loge, 32 par la petite et 26 par les deux. Allongement des filaments qui atteignent 60 µ, et épaississement jusqu'à 8 µ. Quelques ramifications en fourche apparaissent.

Après 36 heures, le pourcentage des germinations par loge s'établit comme suit :

Grande loge : 10 %,
Petite loge : 25 %,
Les deux loges : 65 %.

Les filaments sont trapus, quelques cloisons apparaissent ; de grosses gouttelettes huileuses ponctuent le mycélium.

Après 48 heures, le pourcentage des germinations par les deux loges augmente :

Grande loge : 15 %,
Petite loge : 10 %,
Les deux loges : 85 %.

Allongement des filaments, jusqu'à 120 µ. Ramifications nombreuses, cloisons de plus en plus apparentes et serrées. Les terminaisons des hyphes sont fréquemment étalées.

Après 4 jours, certains filaments atteignent 280 µ de long et 10 µ d'épaisseur. Les rameaux secondaires s'épaississent et contiennent de grosses gouttelettes huileuses. On remarque un début de jaunissement des filaments.

Après 7 jours : le développement se poursuit normalement.

Après 11 jours, en plus d'un épaisissement des hyphes et d'un cloisonnement plus serré, on remarque que les filaments par des dilatations et des rétrécissements, acquièrent l'aspect irrégulier caractéristique de *V. inaequalis*. Par la suite, ces caractères s'accentuent lentement.

Eau glucosée a 2 %.

Après 12 heures, jusqu'à 96 % de germinations dont 64 par la grande loge, 20 par la petite et 12 par les deux. La longueur de certains filaments atteint 48 µ.

Après 24 heures, le pourcentage des germinations par les deux loges est quadruplé ainsi que la longueur des hyphes qui mesurent jusqu'à 160 µ. Les extrémités des filaments sont fréquemment enroulées et dilatées en fer de lance ou en boule. Les premières ramifications apparaissent.

Après 36 heures, l'allongement se poursuit régulièrement, les filaments paraissent grêles. Il n'existe encore que peu de ramifications et de cloisons. De nombreuses petites gouttelettes huileuses parsèment le mycélium.

Après 48 heures, le pourcentage des germinations s'établit comme suit :

10 % par la grande loge seulement,

30 % par la petite,

60 % par les deux.

Longueur maximum des filaments : 220 µ, diamètre : 4-6 µ. Augmentation du nombre des ramifications et des cloisons. Jaunissement des hyphes à leur base.

Après 4 jours, peu d'évolution, longueur maximum des filaments 280 µ, jaunissement plus accentué.

Après 7 jours, caractères précédents, légèrement accentués.

Après 11 jours : à partir de ce moment la culture n'évolue que très lentement. Le vieillissement des hyphes est caractérisé par des déformations variqueuses, un épaississement des membranes et une coloration jaune foncé.

b) Sur milieux solides

Sabouraud épreuve.

Après 24 heures, la germination est déjà bien avancée, 80 % des ascospores ont donné des tubes courts.

Après 48 heures, le pourcentage de germinations atteint souvent 100 % dont la moitié par la grande loge seulement, le 1/3 par les deux loges à la fois, le 1/6 par la petite loge seulement. Les filaments atteignent de 60 à 72 µ.

Après 4 jours, 75 % de germinations par les deux loges, 25 % par la petite seulement, un seul tube germinatif a été émis par chaque cellule, les hyphes les plus évolués mesurent 240 µ de long. Dans certains cas, encore peu fréquents, on assiste au début du cloisonnement et de la ramification.

Après 7 jours, très beau développement, les hyphes mesurent 600 µ et parfois plus à partir de l'ascospore. Les ramifications, déjà nombreuses et longues, commencent à s'enchevêtrer. Les filaments demeurent cylindriques et réguliers, ponctués de nombreuses sphères réfringentes. De nouvelles cloisons apparaissent, surtout dans la partie basale qui se teinte de jaune.

Après 11 jours, allongement considérable des hyphes pendant les 3 derniers jours, jaunissement général de la base de la partie moyenne, *les conidies sont en place depuis la veille* (10e jour).

Après 20 jours, les colonies deviennent nettement orbiculaires. La luxuriance du mycélium rend le milieu un peu confus : les hyphes possèdent peu d'irrégularités, peu d'éléments variqueux, la plupart sont de simples tubes ramifiés.

Gélose sucrée ordinaire.

Après 24 heures. Le démarrage de la germination est excellent. 85 % des spores germent, dont 70 par la grande loge et 15 par la petite.

48 heures. 100 % de germination dans les conditions optima. L'allongement des hyphes se poursuit avec rapidité, 200 à 600 µ à partir de l'ascospore. Il s'agit de simples tubes, cylindriques, réguliers, au cytoplasme homogène.

4 jours. L'allongement se fait à la même cadence. Dans la plupart des cas, une seule des loges a germé. Les ramifications sont déjà nombreuses mais pas encore de cloisons.

7 jours. L'évolution se poursuit normalement. Les premières cloisons apparaissent à la partie basale des hyphes qui commence à prendre une teinte jaunâtre.

11 jours. Allongement considérable des hyphes. Mais le mycélium reste fin avec un diamètre disproportionné par rapport à la longueur, 4 à 6 μ seulement. Le cloisonnement de généralise à partir de la base, les ramifications se multiplient. Mais l'allure générale n'a pas changé depuis le 4e jour, les hyphes ont gardé leur régularité.

20 jours. Enchevêtrement mycélien, les hyphes conservent leur régularité même à la base, où l'on constate seulement quelques renflements. Les conidies ont fait leur apparition, mais sont encore peu nombreuses. Les gouttelettes huileuses sont également assez rares.

Le développement du mycélium dans ce milieu se caractérise par l'allongement considérable des filaments et par une ramification exubérante, par contre les hyphes demeurent grêles et peu irréguliers et la sporulation semble retardée.

GLUCOSE 2 % GELOSÉ.

Après 24 heures. Le départ de la germination se fait normalement, les tubes germinatifs mesurent jusqu'à 8 μ au bout de 24 heures. La grande loge surtout a germé.

48 heures. Le pourcentage de germinations augmente, les jeunes hyphes atteignent 24 μ.

4 jours. Le développement continue, l'allongement des hyphes se fait régulièrement. Des gouttelettes huileuses, nombreuses et dispersées, ponctuent le cytoplasme et, par leur réfringence, donnent du relief au mycélium demeuré hyalin.

7 jours. Fait nouveau : l'apparition de ramifications alternes, même sur les rameaux secondaires. En même temps les hyphes s'allongent tout en gardant leur allure mycélienne typique, et se cloisonnent à partir de leur base.

11 jours. Très beau stade. Le cloisonnement est de plus en plus serré, les hyphes sont cylindriques, irréguliers, un peu tortueux, de diamètre encore faible, de 4 à 8 μ. Les gouttelettes réfringentes se multiplient. Longueur maximum : 1.200 μ. A la partie basale on constate une coloration jaune qui va en dégradant jusqu'au hyalin du sommet.
Les ramifications semblent se porter principalement dans les parties apicales.

Au 11e jour, on reconnait *les premières conidies.*

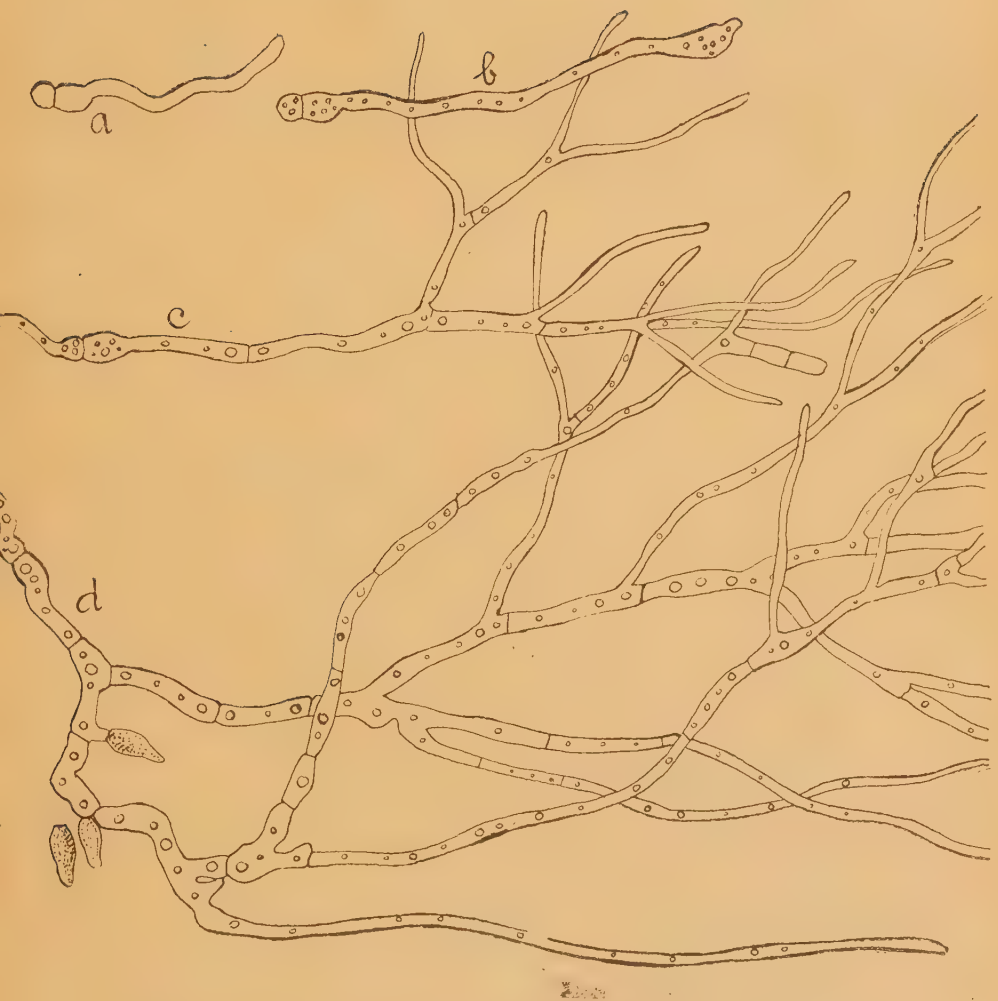


Fig. 52. — *V. inequalis*. Développement sur glucose 2 % gelosé. a : au bout de 48 heures ; b : après 4 jours ; c : après 7 jours ; d : après 11 jours. Gr. 550.

20 jours. Le changement d'aspect général du mycélium a porté sur l'épaississement des hyphes — 12 μ — et sur leur contenu. Le cytoplasme contient de grosses gouttelettes qui donnent aux filaments, par ailleurs assez réguliers, une physionomie particulière. Des cloisons de plus en plus rapprochées segmentent la base des hyphes qui prennent une gamme de teinte allant du jaune au brun. La sporulation se poursuit activement.

Dans ce milieu, l'évolution de *V. inaequalis* n'offre aucune particularité. Mais, au bout de 20 jours, l'aspect miscroscopique des hyphes caractérise le développement du champignon sur ce milieu par la présence de nombreuses et grosses gouttelettes huileuses disposées régulièrement au centre des filaments.

La comparaison entre les cultures dans ces trois milieux solidifiés autorise à conclure que le mycélium subit peu de variations d'un milieu à un autre. Les différences portent surtout sur la vitesse de l'évolution : allongement des hyphes, ramification, cloisonnement, sporulation. Le Sabouraud éprouve s'est montré plus favorable que les autres milieux.

c) Mode de germination

Les deux loges des ascospores de *V. inaequalis* sont fertiles, chacune peut émettre un ou plusieurs tubes germinatifs. Mais la germination n'est pas simultanée pour les deux cellules, dans la très grande majorité des cas, la grande cellule (celle qui regarde la base de l'asque) germe d'abord.

Le premier stade de la germination consiste en un gonflement d'une des loges (ou des deux si la germination se fait simultanément) provoqué par une absorption d'eau. En même temps les membranes sporales se tendent et accentuent leur couleur brun foncé, tandis que le contenu cellulaire s'éclaircit et que les gouttelettes réfringentes se multiplien. Un utricule germinatif apparaît alors. La membrane cède et le jeune filament se trouve brusquement à l'extérieur. C'est d'abord une petite sphère hyaline, quelquefois à peine perceptible, dont le développement s'effectue rapidement. Au deuxième stade, on observe un tube trapu, cylindrique, terminé par une dilatation recourbée. L'emplacement de l'utricule germinatif subit peu de variations dans chaque loge.

Considérons la spore avec le sens qu'elle occupe dans l'asque : la partie basale est représentée par l'extrémité de la grande loge, la partie apicale par le sommet de la petite loge.

Pour la grande loge, la germination se produit, d'une façon presque constante, par la partie subbasilaire, beaucoup plus rarement par la partie ventrale, et exceptionnellement par la

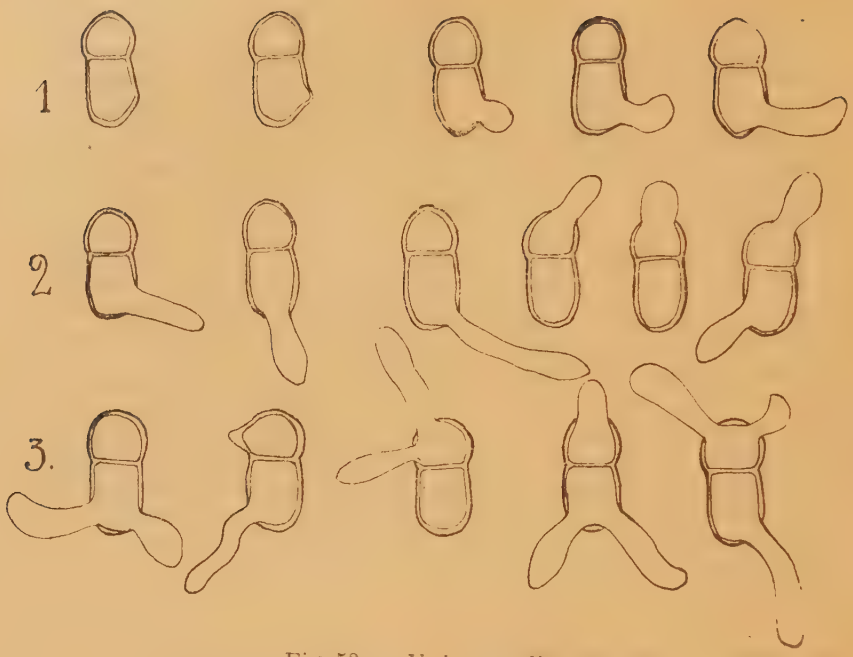


Fig. 53. — *V. inaequalis.*
1. Etapes de la germination de la grande loge.
2, 3. Différents cas de germination, parmi les plus fréquents.

base. Pour la petite loge, la germination est le plus fréquemment terminale ou subterminale, parfois latérale. Il est rare de constater les germinations à proximité de la cloison qui sépare les deux loges.

Le tableau suivant indique le pourcentage des germinations pour chacune des loges, dans différents milieux au bout de 24 heures et au bout de 48 heures (température 15°).

% de germination	24 heures			48 heures		
	Grande loge	Petite loge	les 2 loges	Grande loge	Petite loge	les 2 loges
Eau de pluie stérile.....	42	32	26	15	10	75
Eau glucosée 2 %.....	68	32		80	20	
Glucose 2 % gélosé.....	38	18	44	10	30	60
Gélose sucrée.....	82	18		50	25	25
Sabouraud épreuve.....	56	14	30	56	14	30

(Les chiffres représentent des moyennes relevées dans les différentes germinations).

Au bout de 24 heures, la germination, qui se trouve encore à son premier stade, affecte surtout la grande loge.

Au fur et à mesure que la culture vieillit, le pourcentage de germination pour les deux loges augmente peu à peu pour atteindre parfois 80 à 100 % selon les cas.

Nombre de tubes germinatifs.

Chaque loge des ascospores de *V. inaequalis* peut émettre de 1 à 3 tubes germinatifs, mais dans 89 % des cas elle émet un seul tube.

Le tableau suivant caractérise les germinations à ce point de vue.

3 % ont germé par e seule loge, dont	23 par la petite	22 ont donné 1 seul tube	
		1 a donné 2 tubes	
	20 par la grande	18 ont donné 1 seul tube	
		1 a donné 2 tubes	
		1 a donné 3 tubes	
% ont germé par deux loges, dont	49 ont donné 1 seul tube à chaque loge		
	1 ont donné 2 tubes à la grande loge et 1 à la petite		
	2 ont donné 2 tubes à la petite loge et 1 à la grande		
	2 ont donné 2 tubes aux loges.		

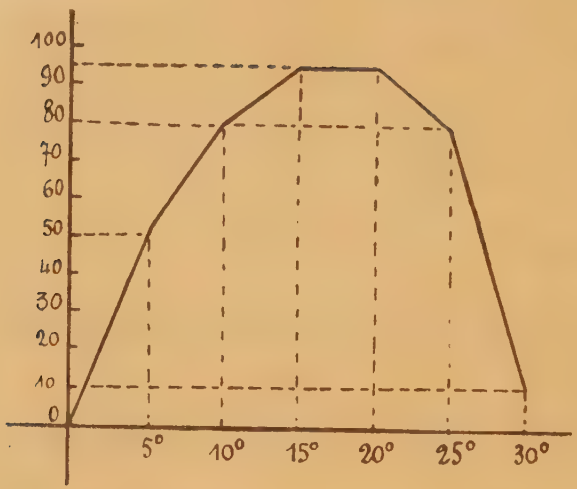
d) Influence des facteurs du milieu sur la germination des ascospores

(Milieu de culture utilisé : eau de pluie en goutte pendante)

L'humidité. — L'influence de l'humidité est primordiale. En l'absence d'eau liquide aucune germination n'a lieu. Des ascospores maintenues sur lames de verre, en atmosphère saturée de vapeur d'eau, n'ont jamais présenté d'ébauches de germination dans aucun essai.

La température. — Les ascospores de *V. inaequalis* ont germé entre + 1° et 32°. A + 1° la germination se fait très lentement et n'intéresse qu'un très faible pourcentage de spores, elle ne donne pas de résultats tangibles susceptibles de caractériser une germination.

GRAPHIQUE.



Germination des ascospores de *V. inaequalis* au bout de 48 heures
En abscisses : températures.
En ordonnées : pourcentage de germination.

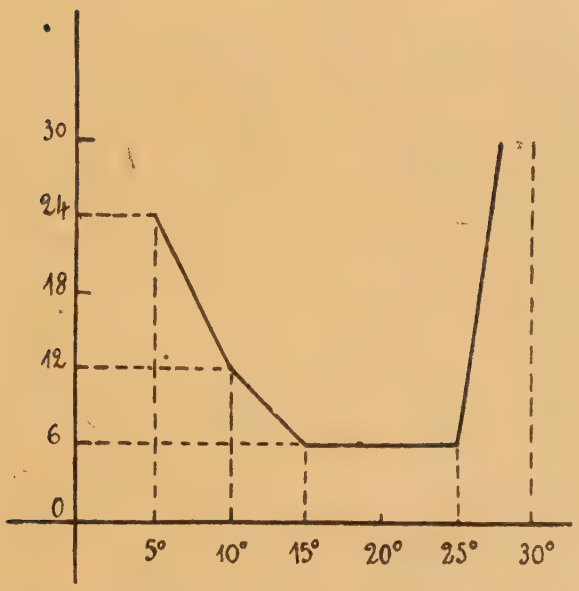
De même à + 30°, le départ de la germination est très lent, très capricieux, et n'affecte qu'un très petit nombre de spores. Au-dessus de 32°, aucune germination n'a été constatée, à aucun moment, dans tous mes essais.

L'optimum se place entre 18° et 20°.

Le graphique nous donne les pourcentages de germination en fonction des températures, après 48 heures. A 5° le pourcentage de germination est déjà élevé, entre 15° et 20° l'optimum est atteint : à 10° et 25° il est encore très notable. Cette courbe montre nettement que les possibilités d'infection par les ascospores de *V. inaequalis* s'étendent sur une grande échelle de températures. L'optimum de 15° à 20° se trouve d'ailleurs très fréquemment réalisé à partir du mois d'avril, après une pluie qui assure la projection des ascospores.

Le deuxième graphique permet de préciser ces notions, en donnant le temps du début de la germination aux diverses températures.

A 5° le départ ne se fait qu'après 24 heures, et à 30° après 48 heures. L'optimum est obtenu entre 15° et 25°, de 50 à 70 % des spores germent en 6 heures à ces températures. C'est donc



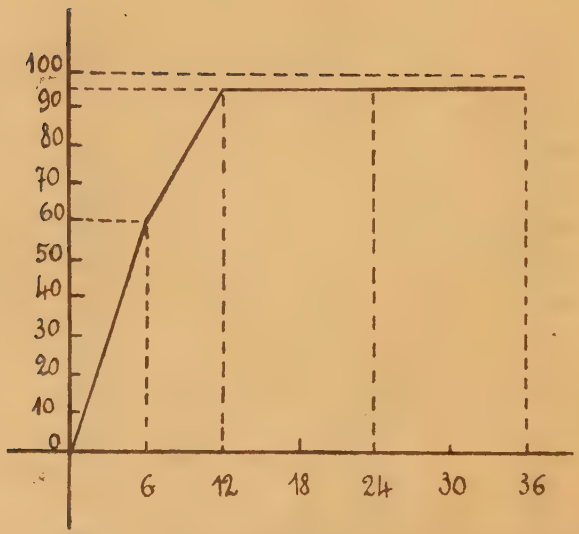
Influence de la température sur le seuil de la germination.
En abscisses : températures. En ordonnées : nombre d'heures.

à ces températures que les infections naturelles seront à craindre, les organes du pommier devant rester mouillés pendant tout le temps de la germination.

Le troisième graphique donne le pourcentage de germinations à 20°. La courbe montre qu'au bout de 12 heures la presque totalité des spores a germé.

(Dans beaucoup d'essais d'ailleurs j'ai obtenu 100 % de germinations au bout de 12 heures).

Les chiffres qui ont servi de base à la construction de ces trois courbes représentent des moyennes relevées au cours de nombreux essais. Des cas particuliers peuvent se présenter et donner des courbes sensiblement différentes. Le plus fréquent est le suivant : les spores projetées sont trop jeunes malgré leurs dimensions normales ; le pourcentage de germination reste faible, et les premiers développements sont lents. Ce cas anormal mais fréquent (et fort ennuyeux dans les ensemencements d'ascospores) doit être écarté de cette étude.



Germination en fonction du temps à la température optimum (20°)
En abscisses : nombre d'heures.
En ordonnées : pourcentage de germination.

La lumière. — Les autres facteurs étant les mêmes, la lumière n'influence en aucune façon la germination des ascospores de *V. inaequalis*.

De même que sur la germination, la température joue un rôle capital sur les premiers développements du jeune mycélium. La figure 54 représente les divers aspects du mycélium, aux différentes températures, après 48 heures. La vitesse de croissance, concrétisée par les longueurs des hyphes, caractérise l'action de la température et place encore l'optimum entre 15° et 20°.

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE SUR LES PREMIERS DÉVELOPPEMENTS DU MYCÉLIUM.

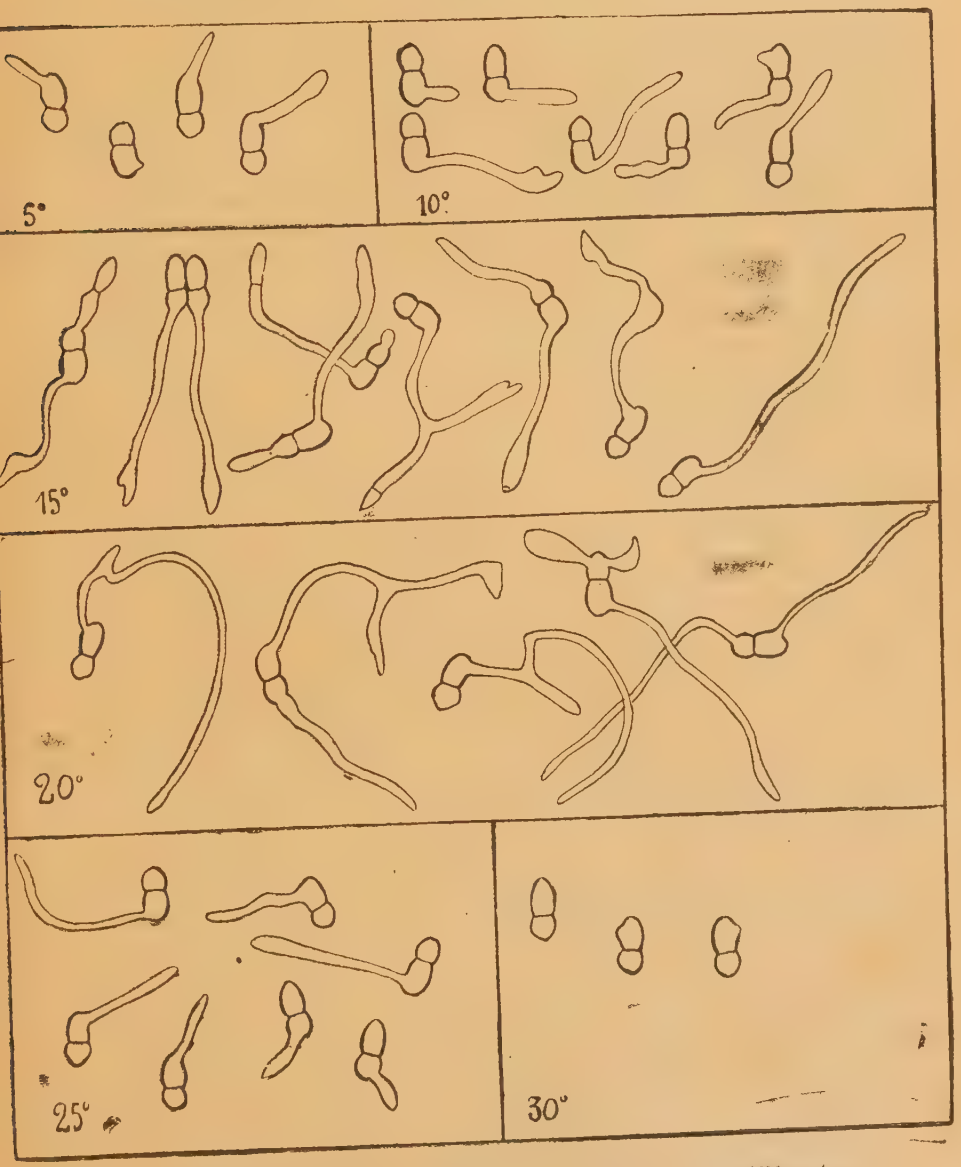


Fig. 54. — *V. inaequalis*. Aspect des germinations, aux différentes températures, au bout de 48 heures. Milieu utilisé : eau de pluie en goutte pendante. Gr. 550.

e) Le mycélium en culture pure

Le mycélium de *V. inaequalis* présente en culture pure une variabilité caractéristique d'autant plus accentuée que la culture est âgée. Cette variabilité a fait l'objet d'études spéciales de la part de Palmiter qui a effectué des cultures monospermes en partant d'ascospores prélevées sur des feuilles appartenant à diverses espèces de Malus. Il a constaté qu'entre les différentes cultures il existait des variations importantes qu'on aurait pu attribuer à des races de *V. inaequalis* spécifiques à chaque espèce parasitée. Mais, au sein de chaque culture, il a pu relever des variations d'une amplitude sensiblement égale. Il a donc conclu à la variabilité du mycélium de *V. inaequalis*.

Dans mes différents milieux de culture, j'ai pu faire des constatations analogues, et il existe en particulier des différences profondes entre le mycélium jeune et le mycélium âgé. L'hyphe jeune est un tube cylindrique plus ou moins flexueux, sans cloisonnement, hyalin, de 1 à 4 µ de diamètre. A l'extrémité, l'hyphe s'évase à peine pour se terminer par une pointe arrondie, ou il s'élargit pour devenir piriforme. A ce stade, la membrane est très fine, à peine différenciée à l'extrémité libre du filament, tandis qu'elle s'affirme et prend une teinte légèrement jaune à la partie basale. Avec l'âge, le mycélium change rapidement d'aspect. Les cloisons apparaissent d'abord espacées et hyalines, puis de plus en plus rapprochées et épaisses. L'hyphe se découpe ainsi en segments inégaux qui grossissent par endroits. L'ensemble prend un aspect variqueux et parfois dentelé, avec de nombreuses dilatations et des rétrécissements. Le diamètre maximum a passé à 12 µ et la coloration hyaline a fait place à un jaune plus ou moins brillant.

Des gouttelettes huileuses, d'abord très réfringentes puis plus ternes, de plus en plus nombreuses et développées, parsèment tout le mycélium âgé.

Les rameaux secondaires ayant des âges divers constituent des intermédiaires entre le mycélium jeune et le mycélium évolué et contribuent à donner à l'ensemble un aspect de plus en plus hétérogène.

Les ramifications prennent naissance sur le trajet des hyphes primaires encore jeunes, avant que n'apparaisse le cloisonnement. Les hyphes secondaires, dont le nombre est toujours faible par rapport à l'allongement rapide du mycélium, ressemblent en tous points au hyphes primaires. L'angle de ramification peut prendre toutes les valeurs de 0 à 180° ; c'est-à-dire que le sens de la progression de l'hyphe principal et des hyphes secondaires peut être complètement différent, parfois même diamétralement opposé.

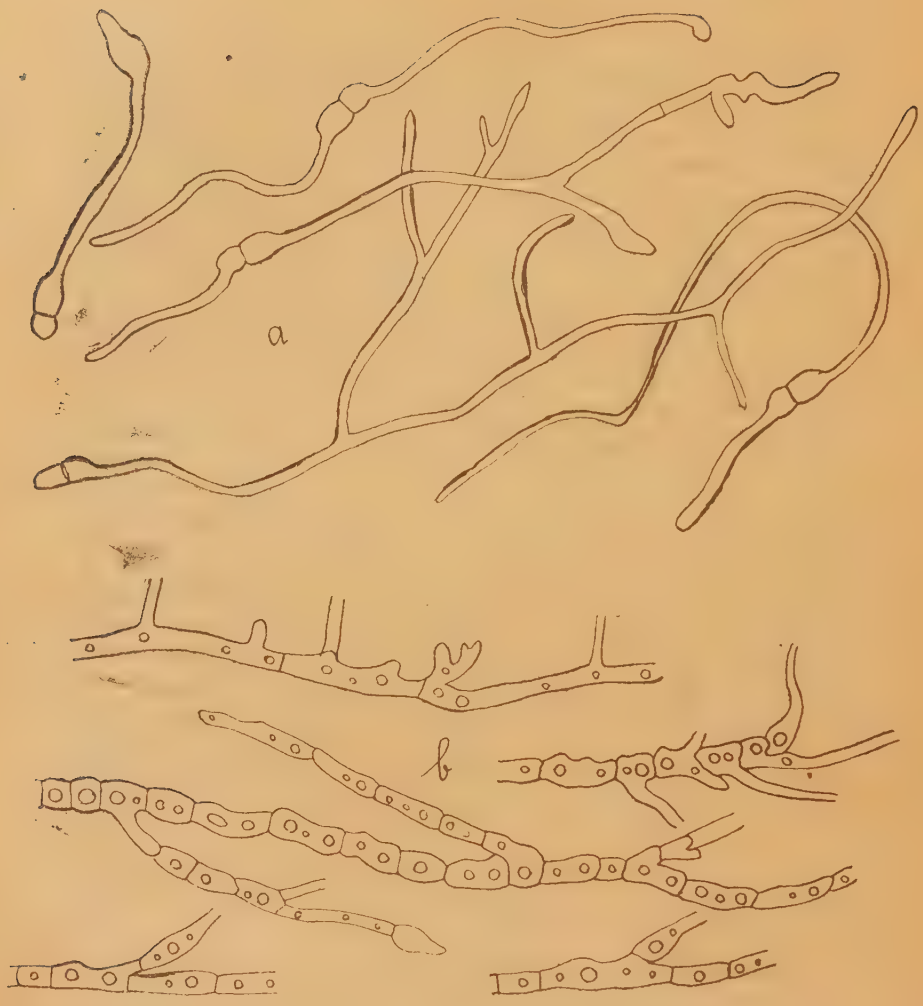


Fig. 55. *V. inaequalis*. Aspects du mycélium en cultures pures. a : mycélium jeune ; b : mycélium de 20 jours. Gr. 550.

Un autre cas se présente assez fréquemment ; l'hyphe primaire se divise en deux rameaux secondaires équivalents disposés en fourche et déterminant un angle aigü.

L'aspect des ramifications change un peu dans les cultures âgées. Une cloison isole le rameau secondaire au niveau de l'étranglement de la base, une autre apparaît sur l'axe principal un peu plus haut ou un peu plus bas que la première. Le dernier segment avant la ramification prend de ce fait un aspect caractéristique : il s'enfle à son extrémité distale pour donner deux indentations en forme de marches d'escalier.

Les rameaux peuvent prendre naissance sur tout le pourtour des hyphes, quelle que soit leur position sur le substratum.

Comparaison avec le mycélium des feuilles mortes.

En coupes tangentielles, le mycélium de *V. inaequalis* progresse en faisceaux compacts, particulièrement denses et de longueur considérable.

Rien de camparable entre ces faisceaux et le mycélium en cultures pures.

Par contre, les hyphes isolés des coupes tangentielles et le mycélium interne relevé dans les coupes transversales sont le reflet assez fidèle des filaments des cultures. Les différences résident dans le mode de progression imposé au champignon dans la feuille. Tangentiellement, il utilise les dépressions intercellulaires, tranversalement les intervalles intercellulaires qui l'obligent à une marche sinueuse dans des espaces irréguliers. Il en résulte de nombreuses dilatations et des rétrécissements, plus accentués que dans le mycélium de culture.

Le système de ramification ne diffère guère, les gouttelettes huileuses sont aussi nombreuses dans les deux cas.

f) La sporulation

La culture en milieux artificiels, jusqu'à obtention de conidies, présente un intérêt particulier pour permettre une comparaison avec la production de conidies dans la nature et pour préciser la position des conidiophores sur le trajet des hyphes végétatifs.

Sur Sabouraud épreuve. — L'émission des conidies commence le *10e jour* de culture. Les conidiophores naissent sur le trajet des hyphes, à des distances très variables de l'ascospore. Ce sont d'abord de petits diverticules dont la direction générale est perpendiculaire ou peu oblique par rapport au rameau mycélien. Rien ne les différencie du filament typique.

La sporulation peut commencer aussitôt, semblable à celle que l'on constate dans la nature. L'élongation du conidiophore se fait alors lentement, suivant le mode normal de *Fusicladium dendriticum*, déterminant une croissance autopodiale. Très fréquemment aussi, les extrémités terminales des rameaux deviennent fructifères. Les conidiophores paraissent longs, mais grêles, certains diamètres ne dépassent pas 3 μ. En partant de conidies, Saccas a obtenu, dans ses cultures, des conidies secondaires sur Sabouraud au bout de 20 jours. L'évolution s'est manifestée deux fois plus rapide en partant des ascospores.

Sur Gélose sucrée ordinaire. — Sur ce milieu, la sporulation ne commence guère avant le 20e jour de culture. Elle se poursuit lentement les jours suivants. Les conidiophores apparaissent principalement sur les terminaisons des filaments mycéliens. Ils ne présentent, au début, aucune différence avec le mycélium végétatif. Au bout de quelques jours, ils se reconnaissent facilement à leur teinte brune et à leur croissance autopodiale provoquant des replis circulaires.

Sur Glucose 2 % gélosé. — Les premières conidies font leur apparition le 11e jour, la sporulation se poursuit de plus en plus abondante, jusqu'à épuisement du milieu. Comme dans les cas précédents, les conidiophores sont latéraux et terminaux. La croissance autopodiale est à peine perceptible pendant les premiers jours de la sporulation, elle devient bien apparente vers le 20e jour de culture, au moment où les conidiophores commencent à se teinter de jaune brun.

Il n'existe pas de différences essentielles dans la sporulation sur ces trois milieux. Les conidiophores sont de simples rameaux mycéliens devenus fructifères dont la position sur l'hyphe peut être latérale mais plus fréquemment terminale. Ceci explique la présence de paquets de conidiophores que l'on constate dans la nature. Ils se développent tout simplement à l'extrémité des palmettes terminales des cordons mycéliens. Les conidies formées sont semblables en tous points à celles qui sont produites dans les taches des organes du pommier, leur germination se déclenche et se développe d'une façon identique.

Fig. 56. — *V. inaequalis*. Formation des conidies. En a sur Sabouraud après 11 jours de culture ; en b sur glucose gélosé après 18 jours ; c : début de la germination des conidies.

B. - Venturia pirina

a) Sur milieux liquides

Eau distillée stérilisée.

Après 12 heures : le départ de la germination se fait lentement ; 51 % des spores germent, les jeunes filaments mesurent au maximum 15 µ.

Après 24 heures : 88 % des spores germent, dont 36 par la grande loge, 32 par la petite et 20 par les deux. Longueur des filaments : 20 µ ; diamètre : 4 µ. Léger jaunissement à la base.

Après 36 heures : même pourcentage de germination, dont 36 par les deux loges à la fois. Longueur maximum : 40 µ ; diamètre : 6 µ. Apparition de nombreuses petites gouttelettes huileuses.

Après 48 heures : la totalité des spores germe, dont :

20 % par la grande loge,
30 % par la petite loge,
50 % par les deux loges.

Longueur maximum 120 µ, diamètre 6 µ, quelques ramifications apparaissent, ainsi que de rares cloisons à la base des filaments. Début de jaunissement dans les parties basales.

Après 4 jours : 64 % des spores germent par les deux loges. Longueur maximum : 150 µ. Il y a peu d'évolution depuis 48 heures. Les ramifications et les cloisons sont peu nombreuses. Le jaunissement des hyphes s'étend.

Après 7 jours : à partir de 7 jours la culture évolue très lentement et péniblement. Ce milieu semble peu favorable aux cultures de *V. pirina* à partir des ascospores.

Eau glucosée a 2 %.

Après 12 heures : 90 % de germinations, surtout par la grande loge. Quelques filaments mesurent 24 µ.

Après 24 heures : 93 % des spores ont germé, dont :

23 par la grande loge,
43 par la petite loge,
27 par les deux loges.

Longueur maximum : 60 µ ; diamètre des filaments : 4 µ. A ce stade, la culture est déjà très belle. On note quelques rares cloisons à la base et quelques ébauches de ramifications.

Après 36 heures : longueur maximum : 120 µ ; diamètre : 4 à 6 µ. Les ramifications sont déjà assez nombreuses, les cloisons restent rares. Jaunissement de base des hyphes.

Après 48 heures : 100 % de germination, dont :

10 par la grande loge,
18 par la petite loge.
72 par les deux loges.

Longueur maximum : 220 µ. Ramifications secondaires nombreuses. On relève des renflements fréquents à la base des filaments. Apparition de gouttelettes huileuses, petites et nombreuses. Très beau développement.

Après 4 jours : on observe fréquemment deux tubes mycéliens par loge. Les filaments mesures 600 µ et parfois plus à partir de l'ascospore. Les ramifications sont nombreuses, les hyphes secondaires sont longs et eux-mêmes ramifiés. Jaunissement bien apparent. Les dilatations s'accentuent.

Après 7 jours : mêmes caractères qu'après 4 jours, un peu plus accentués.

Après 11 jours : très beau développement. Les ramifications très nombreuses forment un feutrage serré.

Apparition des premières conidies.

Ce milieu s'est montré particulièrement favorable aux cultures de *V. pirina* à partir des ascospores.

b) Sur milieux solides

Sabouraud épreuve.

Après 12 heures : la germination s'amorce au bout de 6 heures comme dans les milieux les plus favorables.

Après 12 heures, 63 % des ascospores ont germé, dont 57 par la grande loge et 6 par la petite. Tubes mycéliens très courts, souvent réduits à un simple utricule arrondi et halin.

Après 24 heures : 98 % de germinations dont 40 % par les deux loges. Germination latérale ou subterminale pour la grande loge, subbasilaire pour la petite. Allongement des jeunes hyphes de 24 à 56 µ.

Après 48 heures : dans beaucoup de cultures on obtient 100 % de germinations dont, en moyenne, 92 % par les deux loges et 8 % par la grande loge seulement. Ce milieu semble favoriser particulièrement la germination par les deux loges. Dans les 92 %, 8 spores ont donné 2 tubes pour chaque cellule ; 16, 2 tubes pour la petite cellule et 1 pour la grande ; 20, 2 tubes par la grande cellule et 1 pour la petite. La pluralité

Fig. 57. — *V. pirina*. Développement sur Sabouraud.
a : après 48 heures ; b : après 4 jours ; c : après 7 jours ;
d : après 11 jours ; e : après 16 jours, début de la sporulation. Gr. 550

des tubes mycéliens émis dans chaque cellule de l'ascospore au bout de 48 heures est une autre caractéristique remarquable des cultures de *V. pirina* sur Sabouraud épreuve.

Les filaments restent courts et trapus pour la plupart, cependant quelques-uns, très fins, se sont allongés jusqu'à 240 µ.

Après 4 jours : les petites colonies formées par un enchevêtrement mycélien ont acquis un très beau développement. Les ramifications apparaissent, déjà nombreuses et parfois longues, ainsi que les premières cloisons à la base des hyphes. L'allongement des hyphes continue rapidement, certains atteignent 400 µ et plus.

Après 7 jours. très beau développement des hyphes dont l'allongement rapide se poursuit. Ramifications nombreuses, alternes, parfois très longues. De nouvelles cloisons apparaissent, encore très espacées.

Elaboration de gouttelettes huileuses visibles dans les ascospores et dans certains éléments épaissis.

Après 11 jours : les hyphes atteignent 1,5 mm, les ramifications continuent leur développement. La teinte générale du mycélium vire au jaune clair, le cytoplasme paraît moins homogène. Les filaments présentent des irrégularités, des déformations variqueuses.

Après 16 jours : les caractères précédents s'accentuent. Apparition des *premières conidies*.

Par la suite, la culture ne change guère d'aspect. Cependant les membranes s'épaississent, prennent une couleur brune de plus en plus foncée à la base des hyphes, les formations variqueuses se multiplient. L'enchevêtrement des filaments devient tel à ce moment qu'il est bien difficile de les suivre à partir de l'ascospore.

Gélose sucrée ordinaire.

Dans ce milieu, la germination des ascospores, le développement du mycélium et la production des conidies s'opèrent de façn particulièrement satisfaisante.

Après 12 heures : une moyenne de 82 % des spores ont germé, dont 76 par la grande loge, 3 par la petite et 3 par les deux.

Après 24 heures : 90 à 100 % de germinations suivant les cultures. Allongement rapide, filaments fins et hyalins, de 60 à 80 µ, cytoplasme homogène.

Après 48 heures : 100 % de germinations, dont 76 à 92 par les deux loges. Tubes très longs, jusqu'à 280 µ, grêles et souples. Apparition des premières ramifications et des premières

cloisons à la base des hyphes. On constate, à ce stade, des différences notables avec les cultures sur Sabouraud épreuve.

Après 4 jours : de nouvelles ramifications prennent naissance sur l'hyphe principal et sur les rameaux secondaires, le nombre des cloisons augmente, l'allongement se fait régulièrement, beaucoup de filaments font 400 µ et même plus.

Après 7 jours : le développement est remarquable, les ramifications secondaires couvrent les substratum, la longueur de l'hyphe-mère à partir de l'ascospore dépasse fréquemment 1 mm., le cloisonnement devient de plus en plus serré, tandis que commence le jaunissement à partir de la base des hyphes.

Après 11 jours : l'évolution rapide se poursuit par la production des premières conidies.

Après 14 jours : les hyphes restent grêles et hyalins, pour la plupart de 1 à 6 µ de diamètre. La sporulation continue, sans cependant se généraliser.

Après 20 jours : le mycélium prend un aspect de plus en plus variqueux à la base, avec de nombreux renflements et rétrécissements au niveau des cloisons.

La ramification s'intensifie, de nombreux diverticules de formes souvent curieuses apparaissent sur le parcours des hyphes et principalement à leur extrêmité.

En résumé, ce milieu s'est montré très favorable aux cultures des ascospores de *V. pirina*.

Glucose 2 % gélosé.

Ce milieu s'est montré nettement moins favorable que le précédent dont il diffère seulement par l'absence de peptone.

Après 12 heures : le départ de la germination s'y fait normalement, 76 % des spores commencent à germer, dont 50 par la grande loge et 26 par la petite. On note des longueurs de 28 µ. Remarquons cependant que la germination est fréquemment capricieuse dans ce milieu.

Après 24 heures : pas de changement notable. Léger allongement des hyphes.

Après 48 heures : évolution normale, le pourcentage des germinations atteint 80 %. Les tubes mycéliens restent courts, les plus évolués mesurent seulement 40 µ.

Après 4 jours : 84 % de germinations dont la moitié par les deux loges. Allongement des hyphes : 120 µ.

Après 7 jours : 90 % de germinations, le développement reste encore faible, cependant une évolution certaine s'est manifestée. La couleur hyaline des hyphes de base tourne vers le jaune, quelques ramifications ont pris naissance, les filaments font de 40 à 80 µ, un seul fait 200 µ.

Après 11 jours : un fait nouveau apparaît : le cloisonnement des hyphes dans leur partie basale. En même temps, de très nombreuses gouttelettes huileuses parsèment le cytoplasme qui paraît granuleux.

Après 20 jours : l'évolution continue très lentement par l'allongement et le grossissement des hyphes, par l'apparition de nouvelles cloisons et de nouvelles ramifications.

Dans ce milieu, les cultures sont caractérisées par une évolution très pénible mais sans anomalie.

La comparaison entre les développements de *V. pirina* dans ces 3 milieux gélosés permet de constater que les morphoses sont variables d'un milieu à un autre, d'une culture à une autre dans le même milieu et d'une germination à une autre dans la même culture. Le milieu agit principalement sur la vitesse de l'évolution. La gélose sucrée ordinaire se classe nettement le plus favorable à tous égards.

c) Mode de germination

De même que pour *V. inaequalis*, les deux loges des ascospores de *V. pirina* sont fertiles. Leur mode de germination ne présente aucune différence avec ce qui a été dit pour *Venturia inaequalis* ; la fréquence des germinations, respectivement par la grande loge, la petite loge ou les deux à la fois, est également comparable en tous points. On peut faire une remarque concernant les cultures sur milieu d'épreuve de Sabouraud : les germinations simultanées par les deux loges sont très fréquentes dès le 1er développement et, au bout de 48 heures, 92 % des spores ont émis des tubes par les deux loges.

Tableau indiquant le pourcentage des germinations pour chacune des loges, dans différents milieux, au bout de 24 heures et au bout de 48 heures (Température 15°).

% de germination	24 heures			48 heures		
	Grande loge	Petite loge	les 2 loges	Grande loge	Petite loge	les 2 loges
Eau de pluie stérile	78	22		50	36	14
Eau glucosée 2 %	78	18	4	67	18	15
Glucose 2 % gélosé.....	90	10		90		10
Gélose sucrée	66	34		16	12	72
Sabouraud épreuve.....	60		40	8		92

On sait que la petite loge de l'ascospore de *V. pirina* se trouve dirigée vers la base de l'asque, sens inverse des ascospores de *V. inaequalis*. Cette disposition n'affecte en rien l'emplacement des tubes germinatifs. Pour la petite loge, la germination est surtout subbasale, quelquefois basale, plus rarement ventrale. Pour la grande loge elle est, le plus fréquemment, subterminale, assez souvent centrale, et plus rarement terminale.

Fig. 59. — *V. pirina*.
1. Etapes de la germination d'une loge.
2, 3. Différents cas de germination, parmi les plus fréquents.

Il n'existe donc guère de différences dans le mode de germination des ascospores de ces deux espèces de Venturia.

Et pourtant le mode de germination de leurs conidies est totalement différent. Tandis qu'elle est subbasilaire pour les conidies de *Fusicladium pirinum*, elle est terminale pour les conidies de *Fusicladium dendriticum*, dans la très grande majorité des cas. Ce mode de germination caractérise très nettement chacune des formes conidiennes.

Nombre de tubes germinatifs émis par les ascospores.

Le nombre des tubes germinatifs varie de 1 à 4 pour chaque loge. Cependant, les ascospores qui donnent 3 ou 4 tubes pour l'une de leurs cellules constituent une exception.

Le tableau suivant, qui a porté sur un très grand nombre de germinations, donne une idée précise de la fertilité de chacune des cellules des ascospores de *V. pirina*.

27 % ont germé seulement par une loge, dont . . . . . :

- 13 par la grande loge : 10 ont donné 1 seul tube ; 3 ont donné 2 tubes
- 14 par la petite loge : 13 ont donné 1 seul tube ; 1 a donné 2 tubes

73 % ont germé par les deux loges, dont :

- 50 ont donné 1 seul tube à chaque loge
- 10 ont donné 2 tubes à la grande loge, 1 tube à la petite loge
- 4 ont donné 2 tubes à la petite loge, 1 à la grande
- 6 ont donné 2 tubes à chaque loge
- 1 a donné 3 à la grande loge, 1 à la petite
- 1 a donné 3 à la petite loge, 1 à la grande
- 1 a donné 4 à la grande loge, 1 à la petite

Il y a une très forte prédominance pour la germination des deux cellules et, dans la moitié des cas, chacune donne un seul tube mycélien. Le pouvoir germinatif étant ainsi constaté, on peut ajouter que l'énergie germinative est identique pour les deux cellules qui peuvent germer toutes deux dans le même temps et donner naissance à un ou plusieurs tubes comparables à tous égards.

d) Influence des facteurs du milieu sur la germination des ascospores

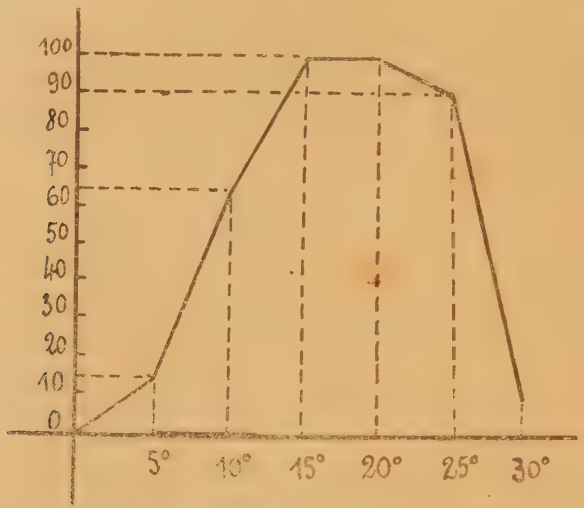
(milieu de culture : eau de pluie en goutte pendante)

L'humidité. — La présence d'eau liquide est également indispensable pour déclencher la germination des ascospores de *V. pirina*, une atmosphère humide ne suffit pas.

La température. — Les ascospores de *V. pirina* ont germé entre + 2° et + 35° ; on constate ici une légère différence avec la germination des ascospores de *V. inaequalis*, ces dernières germent moins difficilement aux basses températures et plus lentement et en proportion plus faible aux températures élevées.

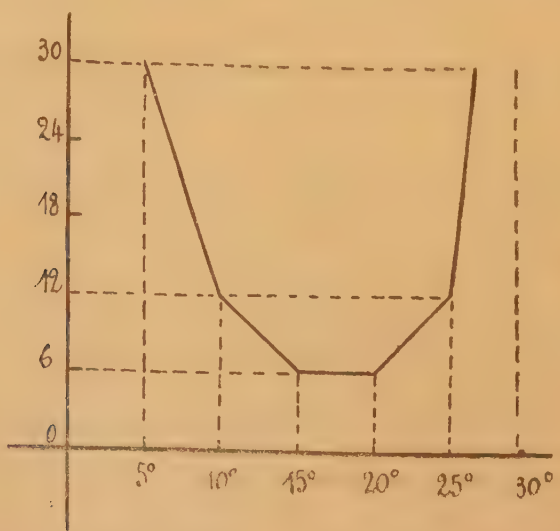
A + 5° et au-dessous, comme à + 30° et au-dessus, la germination des ascospores de *V. pirina* se fait lentement et d'une façon échelonnée, intéressant d'abord un pourcentage très faible.

L'optimum se place entre 15 et 17°, par conséquent sensiblement inférieur à celui de *V. inaequalis*.



Germinations des ascospores de *V. pirina* au bout de 48 heures.
En abscisses : températures.
En ordonnées : pourcentage de germination.

Le graphique nous donne le pourcentage de germination, au bout de 48 heures, aux différentes températures. Après un départ lent au-dessous de 10°, la germination est importante à 10° et 25° et optimum entre 15° et 20° (très fréquemment 100 % de germinations). A 30°, les résultats sont comparables à ceux de 5°.



Influence de la température sur le seuil de la germination.
En abscisses : températures. En ordonnées : nombre d'heures.

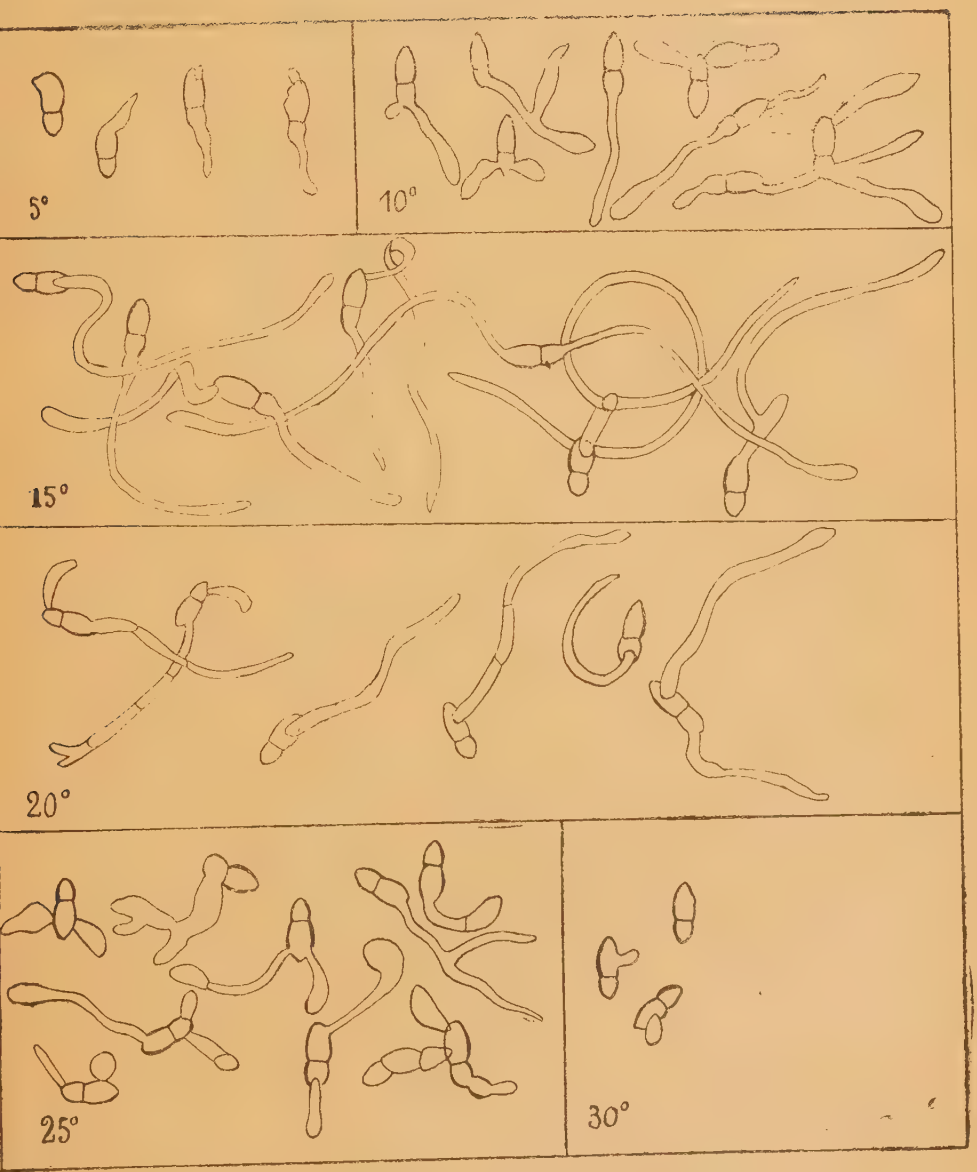
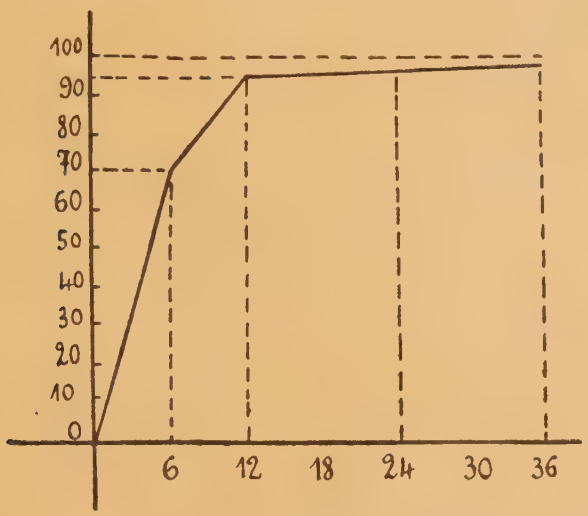


Fig. 59. — *V. pirina*. Aspects des germinations, aux différentes températures, au bout de 48 heures. Milieu : lau de pluie en goutte pendante.

Le graphique nous indique le départ de la germination en fonction de la température. A 15°, ce départ a lieu dans le délai le plus court ; de 10 à 25°, la germination commence au bout de 12 heures ; à + 5° il faut attendre 30 heures, et à 30°, 48 h.



Germination en fonction du temps, à la température optimum (15°).
En abscisses : nombre d'heures.
En ordonnées : pourcentage de germination.

Le graphique donne les pourcentages de germination en fonction du temps, à la température optimum (15°).

Au bout de 6 heures, 70 % (en moyenne) des spores ont germé ; au bout de 12 heures nous avons déjà un pourcentage voisin du maximum et même très souvent 100 %.

La lumière. — De même que pour *V. inaequalis*, la lumière n'a aucune influence sur la germination des ascospores de

e) Le mycélium en culture pure

Le mycélium de *V. pirina* présente, en culture pure, un polymorphisme accentué au sein d'une même culture dans un milieu défini. S'il s'agit de cultures sur milieux différents, le polymorphisme est encore plus prononcé.

Des différences importantes existent entre les hyphes jeunes et les hyphes âgés.

L'hyphe jeune comprend des tubes cylindiques à structure siphonée pendant longtemps, de faible diamètre, de 1 à 4 µ, mais généralement de grande longueur. L'extrémité de l'hyphe, toujours hyaline, s'atténue peu à peu pour finir en pointe arrondie ou plus rarement en une dilatation en forme de fer de lance. Les cloisons transversales apparaissent très discrètement et éloignés les unes des autres. A ce stade l'ensemble dese hyphes ne manque pas d'homogénéité.

Avec l'âge, des changements profonds interviennent qui affectent l'aspect général, les dimensions et la coloration des filaments.

L'hyphe peut rester régulier, mais possède un cloisonnement bien apparent et serré, il comporte alors une série de segments inégaux, légèrement déprimés au niveau de la cloison, et un peu renflés en leur milieu. Mais des dilatations apparaissent, irrégulières et inégales, qui donnent à l'hyphe un aspect variqueux. Le diamètre a passé de 8 à 12 µ et la gamme de coloration varie du jaune au brun clair.

Tout au long du mycélium, jeune ou âgé, des courts processus font saillie, ébauches de ramifications.

Les hyphes secondaires prennent naissance tout au long de l'axe principal, un peu au hasard. La ramification se fait selon deux procédés bien caractéristiques. Dans le premier cas, l'axe principal garde tout au long de son développement son caractère de hampe fertile et les rameaux peuvent être assimilés à des systèmes appendiculaires. La naissance du rameau est marquée par un étranglement au niveau du point d'insertion et fréquemment aussi par une cloison qui isole la base de l'hyphe au niveau de cette géniculation. L'angle formé par le rameau secondaire et l'hyphe principal orienté vers l'extrémité libre du filament en voie de croissance peut prendre toutes les valeurs de 0° à 180°. Les hyphes secondaires donnent des ramifications selon le même processus.

Dans le deuxième cas, la ramification de l'hyphe principal donne deux filaments de valeur sensiblement égale formant entre eux un angle aigu. Finalement, une cloison délimite la

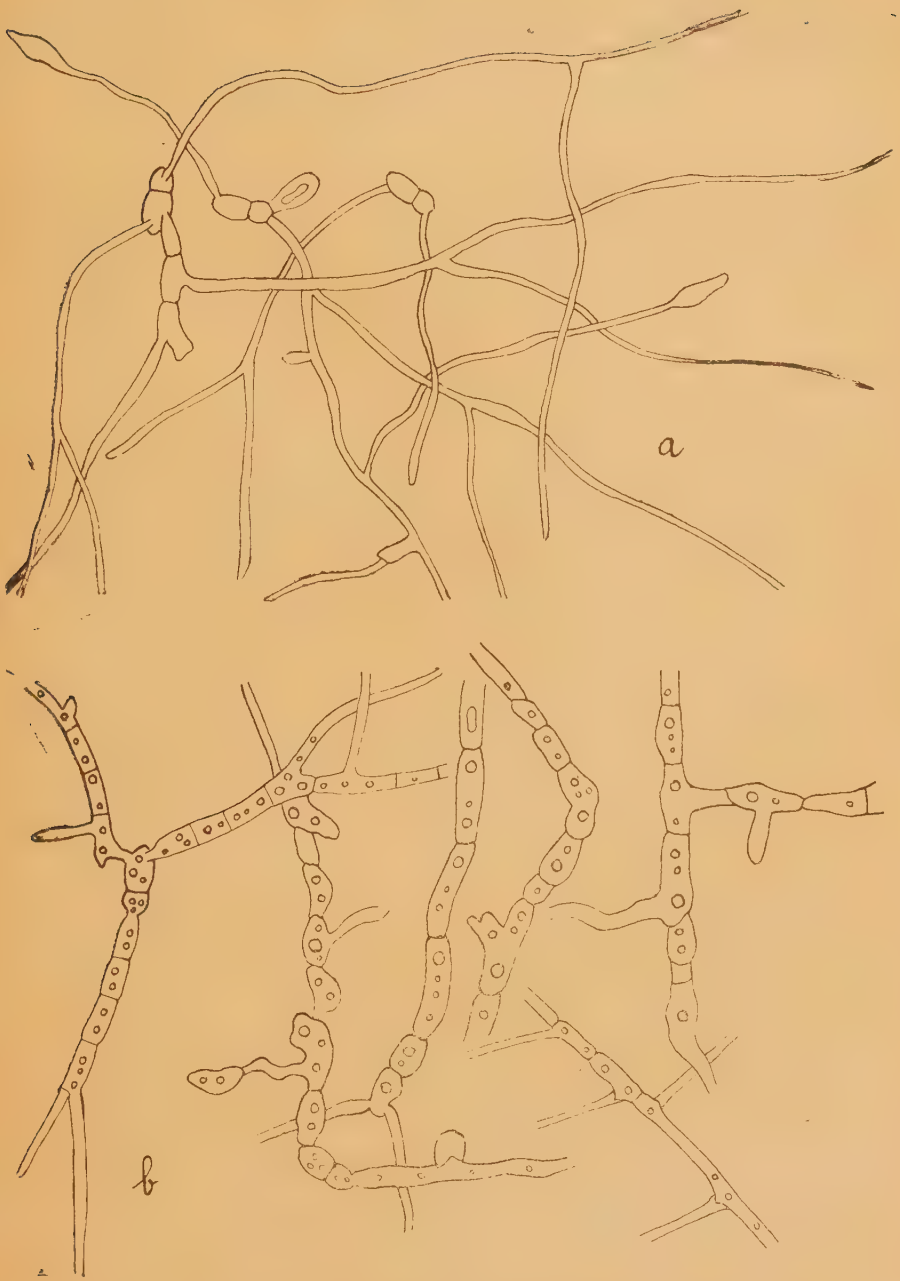


Fig. 60. — *V. pirina*. Aspects du mycélium en cultures pures. a : mycélium jeune ; b : mycélium de 20 jours. Gr. 550.

base de chacun des rameaux au niveau de la ramification. Ce système de dichotomie engendre un réseau mycélien qui ne comprend plus d'hyphe principal. Avec l'âge, des gouttelettes huileuses s'élaborent dans le protoplasme légèrement granuleux, se développent et confluent vers le centre des hyphes.

Des variations sensibles de ce schéma du mycélium de *V. pirina* en culture pure sont constatées d'un milieu à un autre et principalement concernant les dimensions des filaments, les ramifications, le cloisonnement. Le polymorphisme de cette Sphériacée se confirme dans tous ses modes d'existence : phase parasitaire, phase saprophytique dans les feuilles mortes, cultures pures en milieux artificiels.

Comparaison avec le mycélium dans les feuilles mortes.

Le mycélium des cultures pures sur milieux artificiels se rapproche du mycélium interne cheminant dans le mésophylle des feuilles mortes. Cependant, l'obligation d'évoluer dans un espace réduit dans la feuille, en empruntant les espaces intercellulaires, rend les hyphes plus irréguliers, plus variqueux et plus condensés. En culture, le mycélium s'étend davantage en surface et grossit moins. Le système de ramifications est identique dans les deux cas.

Les coupes tangentielles dans les feuilles mortes nous ont révélé un autre aspect du mycélium, celui des cordons mycéliens qui, sans avoir la fréquence et l'importance de ceux de *V. inaequalis*, caractérisent la marche tangentielle du champignon.

f) La sporulation

Sur Sabouraud épreuve. — Le début de la formation des conidies se place au *16e jour* de culture. Cependant, si la couche de Sabouraud est trop fine, la sporulation se trouve retardée de plusieurs jours, parfois même elle n'a pas lieu alors que le développement des hyphes est normal par ailleurs. Les conidiophores naissent latéralement sur les filaments végétatifs. Les plus rudimentaires se différencient à peine du mycélium, simples utricules de 2 à 4 µ de long dont l'extrémité bourgeonne les conidies. Ils peuvent également prendre naissance à l'extrémité d'un court rameau secondaire. Ils sont toujours isolés. La croissance sympodiale leur donne cet aspect particulier connu dans la forme conidienne de *Fusicladium pirinum*.

Saccas a constaté la production de conidies secondaires en partant d'un semis de conidies, au bout de *8 jours*, soit dans la

moitié moins de temps que dans les semis d'ascospores. Le Sabouraud épreuve se comporte comme un milieu médiocre pour la culture des ascospores.

Gélose sucrée ordinaire.

La production de conidies débute après *11 jours* de culture, sur le trajet d'hyphes secondaires, à l'extrémité de conidiophores très-courts, mais nettement différenciés du mycélium végétatif. Dans ce milieu, les hyphes se développent d'une façon remarquable, mais ils restent grêles. Les conidiophores naissent aussi bien sur ce mycélium grêle — les premiers formés se situent à environ 200 µ de l'ascospore, parfois sur le trajet de l'hyphe primaire — que sur les hyphes plus évolués, épaissis, segmentés et colorés.

Glucose 2 % gélosé.

Le développement sur ce milieu présente un certain nombre d'anomalies, fréquemment 2 ou 3 germinations par la même

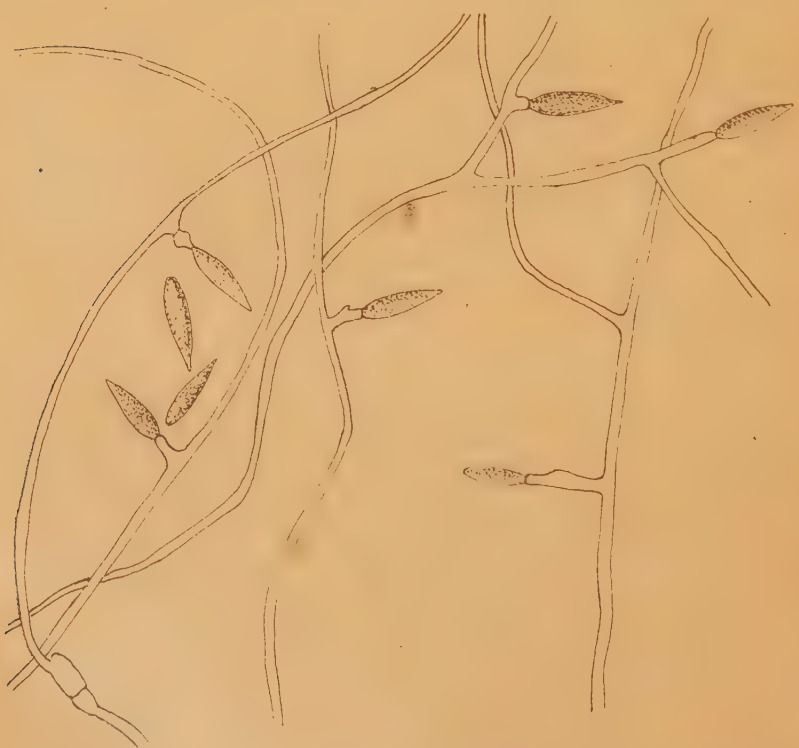


Fig. 61. — *V. pirina*. Début de la sporulation sur filaments grêles. Gr. 550.

cellule, cloisonnement très serré à la base des hyphes, ramification et rameaux souvent aberrants. La sporulation y est particulièrement capricieuse, il s'y développe très peu de filaments fructifères ; très souvent d'ailleurs, dans beaucoup de cultures, la sporulation n'a pas lieu, même après 30 jours de culture.

Dans les cultures, comme dans la nature, les conidies prennent naissance sur le trajet d'hyphes végétatifs normaux, non différenciés, à l'extrémité de processus fructifères ou conidiophores, à croissance sympodiale, toujours isolés, se développant latéralement sur les filaments, ou plus rarement à leur extrémité.

Une différence capitale existe entre les émissions de conidiophores par les deux *Venturia*, qui s'effectuent isolément pour *V. pirina* et en paquets pour *V. inaequalis*. Cela s'explique par le mode de progression de leur mycélium — en hyphes isolés ou en cordons — et par le mode d'apparition des filaments fructifères, surtout latéraux pour *V. pirina* et principalement terminaux pour *V. inaequalis*.

3. - Infections artificielles par les ascospores

Le choix du matériel à infecter présente ici une importance capitale. Dans un certain nombre d'expériences je me suis contenté d'utiliser la méthode habituelle : j'ai enfermé les bourgeons terminaux dans des sacs de cellophane avant leur débourrement, et j'ai effectué les infections lorsque les feuilles et les fruits étaient suffisamment développés. Cette façon de procéder a l'avantage d'être simple et de pouvoir utiliser un matériel abondant. Elle présente par contre l'inconvénient très grave de n'être pas rigoureuse, car les bourgeons ainsi utilisés peuvent contenir des stromas conidifères dans leurs écailles qui se trouveraient à l'origine des contaminations.

J'ai ainsi été amené à faire des semis de pépins en serre, à l'abri de toute contamination extérieure, en vue de l'obtention de jeunes plants irréprochables. Ces égrains sont maintenus par la suite dans des pots. Les infections sont réalisées sous cloches en utilisant un pinceau mouillé. Les résultats concordent d'ailleurs, à quelques détails près, entre les séries d'expériences faites selon les deux procédés.

A. - Venturia inaequalis

Après 12 heures : la germination des ascospores a commencé par une seule des loges, certains tubes mesurent jusqu'à 44 µ.

Après 18 heures : allongement des hyphes, 56 µ ; ce sont des tubes simples, évasés à leur extrémité, parfois un peu renflés

Après 24 heures : Certains tubes continuent de s'allonger, 120 µ ; d'autres, plus gros, semblent arrêtés et présentent une extrémité dilatée. Certaines spores ont germé par les 2 loges.

Après 48 heures : 100 % de germinations, dont une forte proportion par les deux loges. Les extrémités de certains tubes, nettement dilatées, sont appliquées contre la cuticule de la feuille. Elles constituent des appressoria, comparables en tous points à ceux qui ont été décrits dans les cas d'infection par les conidies.

Après 4 jours : l'infection s'est effectuée. Déjà des hyphes secondaires, organisés en cordons, cheminent intensément sous la cuticule.

L'hyphe d'infection, sorti de l'appressorium, pénètre à travers la cuticule et rampe immédiatement à la face supérieure des cellules épidermiques. Cet hyphe primaire est épais, hyalin, d'abord unicellulaire, puis rapidement cloisonnée au fur et à mesure qu'il s'allonge. Il se ramifie selon le processus qui a été décrit précédemment, donne des hyphes secondaires qui se ramifient à leur tour. L'ensemble forme des cordons mycéliens, de plus en plus épais lorsqu'on s'éloigne du point d'infection.

Peu de temps après, l'organe contaminé manifeste extérieurement la présence du parasite. Les parties supérieures du limbe se dépriment légèrement et se dépigmentent sur une surface d'abord restreinte, mais dont l'accroissement suit le développement interne du parasite. La nécrose devient nette.

Après 12 jours : les taches nécrosées s'assombrissent lors de l'apparition des premiers conidiophores portant les premières conidies de la forme *Fusicladium*. L'incubation dure 12 jours sur des jeunes feuilles de plants issus de semis à la température moyenne de 15°-16°.

A partir de ce moment, les taches brunissent rapidement pour devenir brun-olivâtre. Elles s'étendent si l'atmosphère reste humide, la libération des conidies devient de plus en plus abondante.

Les infections se réalisent beaucoup plus facilement sur organes jeunes en voie de croissance, surtout les feuilles et les fruits aussitôt après leur formation et l'extrémité des jeunes rameaux, cependant les organes plus âgés restent vulnérables à tous les stades de leur développement.

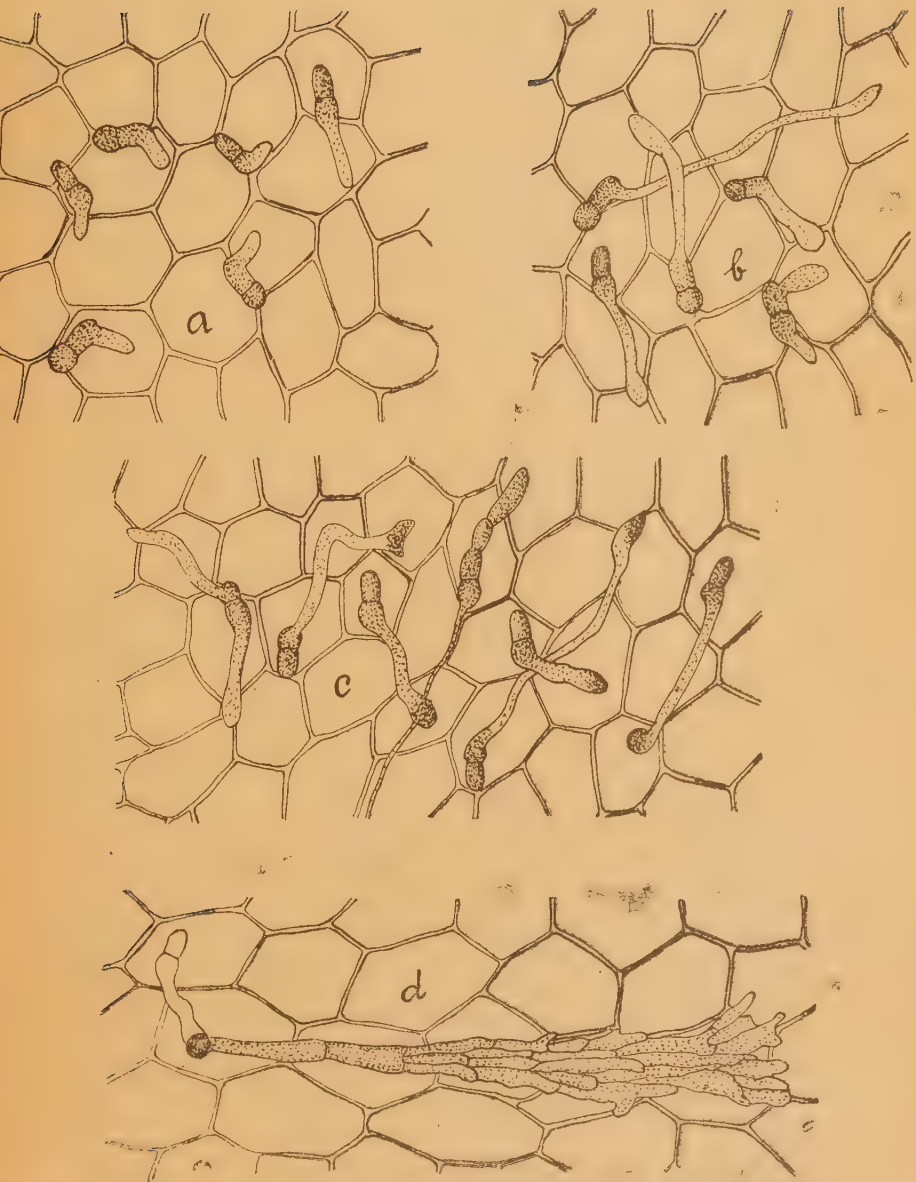


Fig. 62. — *V. inaequalis*. Infection de la feuille à partir des ascospores
Coupes tangentielles : a : après 12 h. ; b. après 24 h. ;
c : après 48 h. ; d : après 4 jours. Gr. 550.

B. — Venturia pirina

Les infections ont été opérées sur feuilles, fruits, rameaux, de poiriers de différents âges et sur jeunes sujets issus de semis. Par leur marche générale, elles peuvent se comparer en tous points à celles de *V. inaequalis*.

Après 12 heures : forte proportion de germinations, toutes par la grande loge. Les tubes sont courts et trapus, fréquemment terminés par une dilatation. Longueur maximum : 36 µ.

Après 18 heures : la proportion des germinations augmente, mais toujours par la grande loge.

Après 24 heures : quelques germinations par la petite loge, et pour un petit nombre de spores par les deux loges. Allongement lent des tubes mycéliens.

Après 48 heures : le pourcentage des germinations varie entre 60 et 80 % des ascospores. (Ce pourcentage dépend essentiellement de l'humidité maintenue au niveau des feuilles.) Certains hyphes possèdent un renflement terminal qui évolue vers la formation d'un appressorium typique.

Après 60 heures : l'allongement des hyphes se poursuit, longueur maximum 120 µ. Les dilatations terminales se sont fixées sur la surface du limbe et forment des appressoria. Apparition de quelques ramifications et de cloisons à la base des hyphes.

Après 4 jours : la pénétration du mycélium s'est effectuée. A la faveur de l'appressorium, un hyphe d'infection a perforé la cuticule, et donne immédiatement à la face supérieure des cellules épidermiques un hyphe primaire, épais et hyalin, qui chemine, solitaire, à partir du point d'infection.

Après 7 jours : l'évolution subcuticulaire du champignon se poursuit rapidement par l'émission de ramifications secondaires. La différence essentielle avec les hyphes de *Venturia inaequalis* se manifeste déjà, nous n'avons pas ici de formation de cordons mycéliens ; les rameaux secondaires prennent, dès leur naissance, une direction différente de celle des hyphes-mères, de sorte qu'un enchevêtrement inévitable se produit, amenant rapidement la constitution d'un réseau mycélien tel qu'il a été décrit dans la partie morphologique.

A partir de ce stade la lésion devient visible, macroscopiquement. Les tissus nécrosés s'affaissent constituant une zone déprimée, irrégulière, qui se dépigmente peu à peu. L'affection conserve cet aspect jusqu'à l'apparition des conidiophores et des conidies qui se produit de 16 à 20 jours après l'infection,

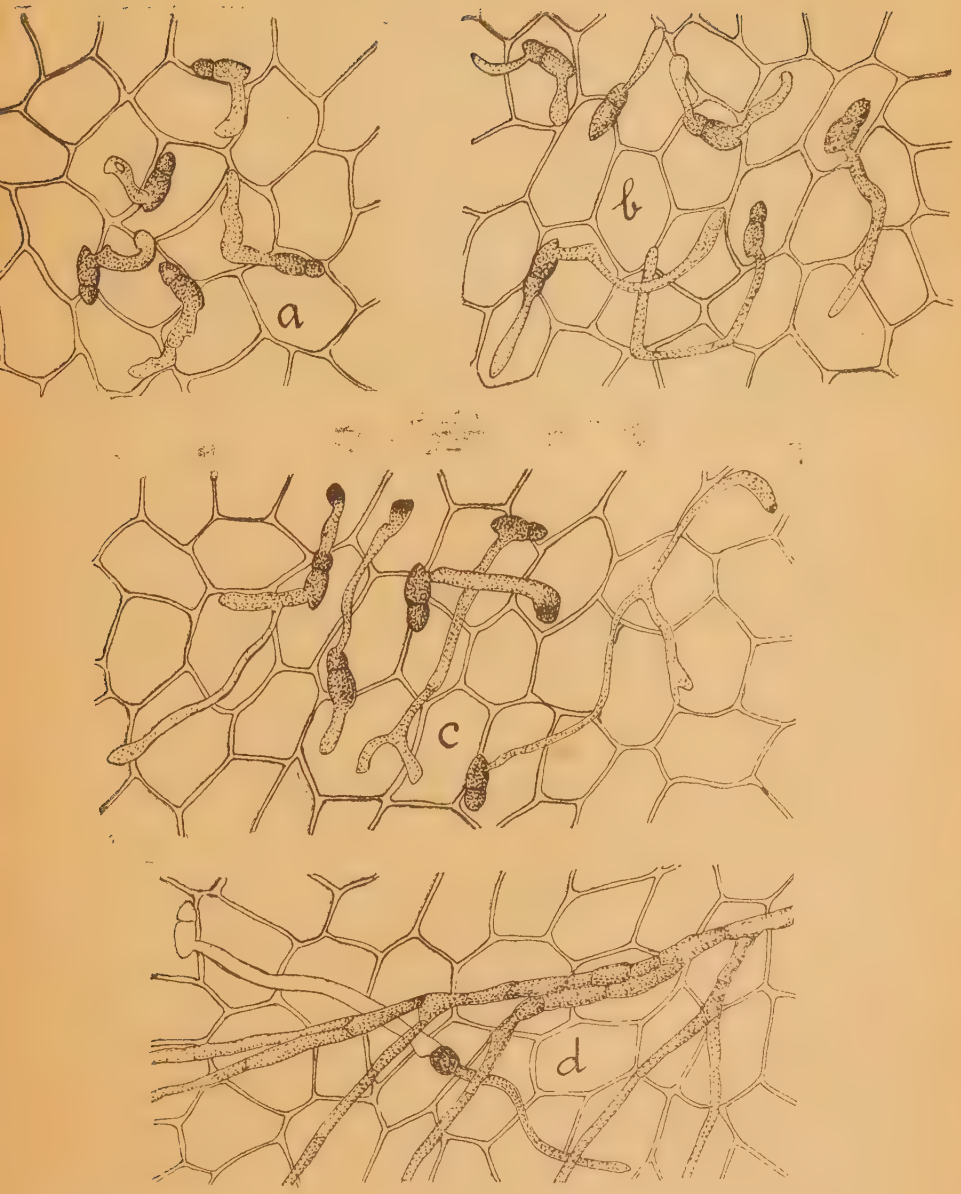


Fig. 63. — *V. pirina*. Infection de la feuille à partir des ascospores. Coupes tangentielles : a : après 12 h. ; b : après 36 h. ; c : après 60 heures ; d : après 7 jours. Gr. 550.

à la température moyenne de 15°. L'éclosion est caractérisée par une modification de la couleur et de la texture des lésions: zones granuleuses puis poussiéreuses, d'abord olivâtres puis brun-olivâtres. Les taches évoluent rapidement si l'humidité est suffisante pour permettre la formation accélérée des conidies.

Quel que soit l'organe attaqué, le processus de l'infection reste le même ; des différences apparaissent seulement dans la vitesse de développement des hyphes secondaires et par conséquent dans la durée de l'incubation.

Les infections par les ascospores sont comparables en tous points à celles qui sont réalisées à partir des conidies qui ont été décrites par Saccas. Dans les deux cas, les organes jeunes se montrent beaucoup plus vulnérables que les organes âgés dans lesquels la pénétration de l'hyphe infectant, par suite de l'épaississement de la cuticule, se fait plus difficilement.

CYCLE des PARASITES dans la NATURE

A. - Venturia inaequalis

a) Forme conidienne

La forme conidienne, *Fusicladium dendriticum*, se manifeste particulièrement pendant la période de végétation active du pommier. Elle est responsable des dégâts causés aux feuilles, aux rameaux et surtout aux fruits. Mais l'émission des conidies se prolonge pendant le repos hivernal, à un rythme très faible, mais suffisant pour assurer la permanence de la forme conidienne.

1° *Forme conidienne d'été.* — Les premières manifestations des attaques primaires apparaissent dès le débourrement sur les jeunes feuilles. Les taches sont fréquemment disposées sur deux lignes longitudinales, situées de part et d'autre de la nervure centrale, à la face inférieure. Cette disposition témoigne en faveur d'une contamination assurée au moment où la jeune feuille était encore enroulée en cornet. Ce fait a été signalé par plusieurs auteurs, il est d'ailleurs beaucoup plus fréquent chez le poirier. Les premières taches sont visibles dès le début de mai, fréquemment avant le 10, sur les variétés hâtives, après une incubation de 15 à 20 jours, ce qui place les contaminations entre le 20 et le 30 avril.

Des manifestations semblables apparaissent sur les fleurs (pétales, sépales, ovaire, pédoncule) et sur les jeunes fruits dès leur éclosion.

Les conidies secondaires peuvent donc être en place dès le début mai. A partir de cette date, les taches conidiennes se multiplient rapidement, principalement sur la face supérieure des feuilles. Leur formation, qui ne connaîtra que de faibles interruptions pendant les périodes de sécheresse, se poursuivra parfois jusqu'au seuil de l'hiver.

Le 1er décembre, un cordon horizontal de la variété Bismarck a conservé exceptionnellement ses feuilles. Il présente une attaque particulièrement intense : taches éparpillées sur tout le limbe, parfois grandes plages entièrement couvertes de la poussière brun-olivâtre des conidiophores. Des coupes montrent qu'il s'agit de taches récentes, les conidiophores sont jeunes, certains portent leur première conidie. Le champignon se révèle en pleine activité et, malgré la date tardive de leur production, les conidies ne présentent aucune anomalie. Elles ont

germé, en forte proportion, dans l'eau de pluie en goutte pendante. Certains hyphes mesuraient 60 µ après 24 heures.

Sur rameaux, les attaques peuvent débuter également au début du printemps, mais elles ne se généralisent jamais et ne présentent pas d'importance pratique. A partir du mois d'août on relève des taches moins rares sur les rameaux et principalement sur les « faux bourgeons » développés à la suite des pincements.

2° *Forme conidienne d'hiver.* — Les fruits ne constituent aucune menace pour la perpétuation du parasite. On connaît, par ailleurs, le sort des feuilles tombées.

Que devient le champignon dans les rameaux tavelés ? Les conidies peuvent passer l'hiver sur ces taches, si elles ne sont pas trop lavées par la pluie, et gardent un pouvoir germinatif suffisant pour être capables d'assurer des contaminations au printemps suivant.

Mais, en général, une évolution se produit. Le mycélium subcuticulaire forme des stromas qui soulèvent l'écorce et forment un petit dôme. Le champignon reste vivant dans ces pustules et est capable de produire des conidies. Dans la région de l'Ouest on constate rarement l'ouverture de ces pustules pour livrer passage à des conidies. Il faut concéder à ce mode de conservation du parasite l'importance qui lui revient et qui, dans certains cas, n'est pas négligeable. Constatons cependant que l'ouverture des pustules se fait tardivement, le plus souvent au début du printemps, au moment où les ascospores sont libérées à profusion.

Les pustules qui n'évoluent pas en stromas conidifères sont exfoliées par la plante, grâce à une formation abondante de liège réactionnel.

Une évolution un peu différente se produit à partir des rameaux. Les bourgeons latéraux ou terminaux sont contaminés et sont capables de donner naissance à des conidies dès le début de l'hiver. Mac Kay, en Irlande (1938), attribue une grande importance à ce mode de conservation du parasite. Il a trouvé de fortes proportions de bourgeons atteints et a constaté la sporulation à partir de fin février. Saccas a fait les mêmes constatations sur Reinette grise et Reinette blanche du Canada, Calville blanche, Reine des Reinettes, et a observé la sporulation depuis février jusqu'à la chute des écailles.

Malgré les centaines de bourgeons examinés soigneusement chaque année, je n'ai trouvé qu'un très faible pourcentage portant des stromas conidifères. Leur très petit nombre autorise à affirmer que ces bourgeons n'assurent pas seuls la responsabilité des contaminations primaires.

La date de production des conidies par les écailles des bourgeons est sensiblement plus précoce que celle qui a déjà été mentionnée, elle se place fin janvier pour la variété Teint Frais.

b) Forme ascosporée

La formation des périthèces débute aussitôt après la chute de la feuille. Elle est généralisée tous les ans. Les ascospores font leur apparition dès le mois de février, leur projection dans la nature peut commencer en mars et se poursuivre jusqu'en juillet.

A toute époque de l'année, il existe par conséquent des spores contaminantes : *des conidies* dont la pérennité est indiscutable mais dont le nombre pendant le repos de la végétation est relativement faible ; *des ascospores*, en nombre considérable, libérées par les pluies depuis mars jusqu'en juillet.

B. - Venturia pirina

a) Forme conidienne

La forme conidienne, *Fusicladium pirinum*, se retrouve à toutes les époques de l'année sur les organes des poiriers, soit sur les feuilles, les fruits, les rameaux, pendant la période active de la végétation ; soit sur les rameaux et dans les bourgeons pendant le repos hivernal. *Il y a permanence de la forme conidienne*, beaucoup mieux établie que pour *Fusicladium dendriticum*.

1° *Forme conidienne d'été.* — Les manifestations primaires de la Tavelure au printemps débutent peu de temps après le débourrement sur les feuilles, les fleurs, les jeunes fruits. Les premières dates d'apparition de la maladie dépendent de la précocité de la végétation.

En 1945 : le 27 avril, beaucoup de jeunes fruits, à peine noués, portent déjà des conidies secondaires. Dans les gouttes d'eau déposées par la rosée on trouve des conidies en germination.

— *Le 5 mai*, les premières crevasses sont apparues sur de jeunes fruits de la variété Bon Chrétien William's.

En 1946 : le 18 avril, sur quenouilles de Beurré Bachelier et Beurré Six. Les *feuilles* présentent des taches bien visibles à l'œil nu, à leur face inférieure. La production de conidies secondaires bat son plein.

Les fleurs : les ovaires et les pédoncules présentent aussi des taches allongées, avec conidies secondaires. Les sépales sont tachés et portent des conidies. Les pétales se flétrissent et meurent. Les anthères et la partie supérieure des filets sont bruns, tués par le champignon. L'extrémité du style et le stigmate subissent le même sort.

1947 : le 26 avril, une fleur de la variété B. C. William's présente les signes suivants :

Ovaire : tache noire, allongée de 2 mm² environ.

Deux sépales complètement noirs et détruits à leur sommet, les extrémités des trois autres sont noirs.

Toutes ces taches sont littéralement couvertes de conidies. Un pétale est complètement noirci, mais ne porte pas de conidies. Un très grand nombre de fleurs de ce poirier présente les mêmes symptômes ; il est donc déjà, à cette date, très gravement atteint.

Les feuilles présentent également de très nombreuses taches, peu étendues, émettant des conidies secondaires en nombre considérable.

Une quenouille de la variété Beurré Diel présente une forte proportion de feuilles attaquées avec taches disposées à la face inférieure, sur deux rangs, le long de la nervure centrale.

1948 : les premières taches ont été constatées sur feuilles de William's, à leur face inférieure, le 28 avril. Elles apparaissent sur la plupart des variétés du 2 au 10 mai, avec disposition en lignes parallèles à la face inférieure.

A partir de la fin avril, les manifestations conidiennes se succèdent et se multiplient jusqu'à une date avancée en automne.

Ainsi, le *5 janvier 1947*, des rameaux de l'année de la variété William's sont encore porteurs de taches noires bien apparentes, analogues d'aspect à des éclosions récentes. Il s'agit d'attaques tardives, les conidies ont persisté en grande quantité sur ces taches et sont normales. Les conidiophores sont vieux. Nous savons que ces conidies sont capables de passer l'hiver en conservant leur pouvoir germinatif.

2° *Forme conidienne d'hiver.* — Cette forme revêt une importance capitale car elle se trouve à l'origine de la plupart des infections primaires de printemps. Elle a fait l'objet d'une étude précise de la part de Saccas, et j'ai pu établir expérimentalement, et dans la nature, la responsabilité de cette forme dans les infections primaires. (Sur le mode de contamination du poirier par les conidies de *V. pirina* Aderhold, communication à l'Académie des Sciences, le 11 juin 1945.) Il importait en particulier de déterminer avec précision les dates d'ouverture des pustules conidifères sur les rameaux, pour prévenir les premières attaques par des traitements appropriés. L'évolution des taches conidiennes des rameaux en pustules conidifères en plein cœur de l'hiver se généralise tous les ans sur la plupart des variétés. Les détails qui suivent constituent les premiers renseignements publiés en France concernant l'ouverture de ces pustules.

1945 : le 4 février, ouvertures des premières pustules sur rameaux de 1 an, de Doyenné du Comice, planté en espalier exposé à l'Ouest. La sporulation se fait très activement.

— *Le 8 février*, les pustules s'ouvrent sur les rameaux d'un an d'une quenouille de Doyenné du Comice.

— *Le 9 février*, sur les rameaux de quenouilles de Duchesse d'Angoulême. A partir du 10 février, les pustules s'ouvrent en proportions variables sur l'ensemble des poiriers tavelés en observation.

1946 : le 6 janvier, la première pustule s'ouvre à l'extrémité d'un rameau de 1 an de Bon Chrétien William's en gobelet. Cet arbre se trouve dans un endroit particulièrement exposé à l'humidité.

— *Le 8 janvier*, des pustules s'ouvrent sur greffons de Beurré Superfin, mis en jauge depuis 1 mois. L'évolution du parasite se fait normalement sur les rameaux détachés et mis en jauge ; nous avons donc là un moyen supplémentaire de propager la maladie par la greffe.

— *Le 11 janvier*, les pustules sont ouvertes sur les quenouilles de Beurré Diel et de Beurré d'Amanlis. D'autres variétés présentent des pustules non-ouvertes, sous forme de cloques contenant des conidies : Beurré Hardy, Duchesse d'Angoulême.

1947 : le 9 janvier, l'ouverture des pustules et les premières libérations de conidies sont constatées sur Beurré Hardy, Beurré Diel et Doyenné du Comice, tous les trois en quenouilles. Pour les autres variétés, les dates d'ouverture des pustules s'échelonnent jusqu'en février.

1948 : Exceptionnellement les premières pustules ouvertes sont observées *en décembre* (1947), le *30*, sur jeunes plants de 3 ans de Duchesse d'Angoulême. Certains conidiophores ont déjà libéré plusieurs conidies. (Des rameaux de 2 ans portent encore des pustules ouvertes un an auparavant et ayant conservé quelques conidies).

— *Le 4 janvier*, une seule pustule trouvée ouverte sur quenouille de William's.

— *Le 20 janvier*, les pustules s'ouvrent sur la plupart des variétés.

Ces observations permettent de situer les premières émissions de conidies par les pustules des rameaux *au début du mois de janvier* dans tout l'Ouest. Ces émissions battent leur plein en février-mars, déterminant les contaminations des bourgeons par l'intermédiaire de l'eau de pluie. Elles continuent ensuite au printemps jusqu'au moment où la formation de liège réactionnel exfolie complètement la pustule.

Cette extraordinaire activité du champignon pendant tout l'hiver sur les rameaux constitue une grave menace pour tous les organes réceptifs du poirier.

En même temps, un certain nombre de bourgeons abritent le parasite logé dans les écailles, sous forme de stromas qui

deviennent conidifères, principalement à la fin de l'hiver (début mars). La proportion de ces bourgeons atteints reste très faible, de sorte que ce mode de contamination ne peut pas prendre d'importance pratique comparable à celui des pustules des rameaux.

En définitive, la formation et la dissémination des conidies présentent un caractère permanent sur les poiriers tavelés et le cycle du parasite se boucle sans le secours de la phase saprophytique.

b) Forme ascosporée

De même pour *V. inaequalis*, la formation des périthèces de *V. pirina* se généralise tous les ans sur les feuilles tavelées passant l'hiver sur le sol. Elle débute aussitôt après la chute des feuilles et se poursuit rapidement pendant l'hiver. Les premières ascospores apparaissent dès le mois de janvier, leur projection dans la nature peut s'effectuer dès la fin mars. A partir de cette date et jusqu'au mois de juillet, les projections d'ascospores seront déclenchées par les fréquentes pluies du printemps.

V. pirina se perpétue d'une année à l'autre par deux modes particulièrement importants par le nombre de spores contaminantes émises dans chaque cas : la phase parasitaire sous la forme conidienne dans les rameaux et les bourgeons, et la phase saprophytique sous la forme ascosporée se développant dans les feuilles mortes hivernant sur le sol.

Ce double mode de conservation donne au parasite un système de défense supplémentaire, et rend les traitements contre les infections primaires particulièrement délicats.

Conclusions générales

Cette étude des *Venturia* m'a permis d'apporter des données nouvelles sur la morphologie et la biologie de deux parasites des plus redoutables du Pommier et du Poirier. Elle a mis en évidence, en particulier, que le développement saprophytique de ces champignons aboutissant à la formation de périthèces est, dans tout l'Ouest de la France, un phénomène régulier et constant d'une très grande importance ; la forme ascosporée jouant un rôle indiscutable dans les contaminations primaires, principalement chez le pommier.

Etude morphologique

I. — Caractères macroscopiques.

Les périthèces de *V. pirina* et de *V. inaequalis* sont visibles à la loupe et même à l'œil nu, au cours de l'hiver, sur les feuilles mortes de poirier et de pommier. Les zones de grande densité occupent les emplacements des taches conidiennes, mais toute la surface de la feuille peut en être couverte, sur les deux faces. Ils sont plus nombreux sur la face de la feuille exposée à la lumière. Ils se présentent sous la forme de minuscules points noirs, légèrement saillants, indépendants les uns des autres.

II. — Caractères microscopiques.

A. — *Venturia inaequalis.*

Les études ont porté sur le mycélium saprophytique et sur les périthèces.

Dans les coupes tangentielles, le mycélium de *V. inaequalis* présente une organisation remarquable. Il est constitué par des faisceaux épais, comprenant 10 à 20 hyphes cheminant ensemble sur la face supérieure des cellules épidermiques. Ces faisceaux se ramifient sans cesse, dichotomiquement. A la face inférieure de la feuille, l'aspect est un peu différent : les faisceaux se désagrègent au contact des stomates, car le mycélium n'évolue jamais au-dessus des ostioles. En plus des faisceaux mycéliens organisés nous trouvons, sur les deux faces, des hyphes isolés. Qu'ils soient en cordons ou isolés, les hyphes sont formés de files de segments courts et de forme irrégulière qui leur donne un aspect variqueux. Leurs membrane s'épaissit pour atteindre 1 μ et leur coloration passe rapidement au brun foncé.

Les périthèces, dans les coupes tangentielles, se présentent sous la forme de sphères brunes, aux contours peu nets, disséminées sur toute la surface foliaire. Ils communiquent avec l'extérieur grâce à un col percé d'un ostiole, autour duquel apparaissent, à maturité, un certain nombre de soies raides (2 à 6) de 45 à 55 μ de longueur, en moyenne. Ces soies, qui caractérisent le genre *Venturia*, ne sont ni cloisonnées, ni rameuses et ont, depuis leur naissance, une couleur brun très foncé.

Les coupes transversales montrent le mycélium dans le mésophylle. Strictement subcuticulaire pendant toute la durée de la phase parasitaire, le mycélium commence sa progression à l'intérieur de la feuille aussitôt après sa chute. Il progresse dans tout le parenchyme foliaire et demeure toujours intercellulaire tant que les cellules ne sont pas désorganisées. Les hyphes grossissent, se segmentent, se ramifient peu, mais cheminent toujours isolément. Ils contiennent de très nombreuses gouttelettes lipidiques, plus ou moins volumineuses. La direction des hyphes dans le mésophylle est influencée par la disposition des cellules ; parallèle aux cellules dans le tissu palissadique, et complètement désordonnée dans le tissu lacuneux.

L'échelonnement de la formation des périthèces se précise par les coupes transversales, qui montrent à la fois des périthèces mûrs, des périthèces évolutifs et des périthèces avortés. Sphériques ou piriformes à maturité, les périthèces mesurent en moyenne 120-160 μ × 90-120 μ. L'enveloppe périthéciale est constituée par deux assises de cellules, nettement différenciées, de 4 à 10 μ d'épaisseur.

Le contenu interne du périthèce comprend les hyphes ascogènes, et les asques avec leurs ascospores. Les hyphes ascogènes sont constitués par des filaments fins, hyalins, courts, parfois difficiles à observer. A l'extrémité de ces hyphes se dresse la multitude des asques à différents stades de développement. L'asque comprend un double sac, hyalin ou peu coloré, surmontant un pédicelle court, de 40-80 × 8-13 μ. Il contient 8 ascospores bicellulaires, placées sur un seul rang (rarement sur deux et alors uniquement à la base). La petite loge est dirigée invariablement vers le sommet de l'asque. La couleur jaune des ascospores permet de les observer aisément dans l'asque. Leurs dimensions varient entre 12-15 μ × 4-8 1/2 en moyenne.

B. — *Venturia pirina.*

Dans les coupes tangentielles, *V. pirina* dirige ses hyphes, solitaires ou en très petits groupes, dans tous les sens, formant un réseau mycélien plutôt que de véritables faisceaux. Ce réseau, d'ailleurs, n'a subi que peu de modifications depuis la la fin de la phase parasitaire du champignon Nous y trouvons

un abondant lacis de filaments ayant conservé l'allure mycélienne typique, progressant dans tous les sens, indépendamment les uns des autres. L'hyphe est cylindrique, irrégulier, avec de fréquentes dilatations, à membrane épaisse, brune, à cloisonnement plus ou moins espacé suivant l'âge. La comparaison entre les hyphes mycéliens des deux *Venturia* dans les coupes tangentielles, permet de constater que la disposition est totalement différente chez ces deux espèces. Par contre, si nous prenons un hyphe de *Venturia inaequalis* et un hyphe de *V. pirina*, nous devons conclure que, malgré quelques variations de faible amplitude, ils se comportent d'une façon identique dans tout leur développement.

Les périthèces figurent de petites masses globuleuses, isolées de 120-180 μ de diamètre, de forme moins régulière que ceux de *V. inaequalis* mais d'aspect général identique. Ils sont surmontés d'une couronne noire intense, le col qui s'ouvre par un ostiole garni à maturité de 1 à 6 soies raides. La densité des périthèces est très variable ; densité maximum constatée : 20 périthèces dans un cercle de 360 μ de rayon.

Les coupes transversales permettent d'étudier le mycélium interne. Quittant le stroma subcuticulaire de la phase parasitaire, le mycélium progresse d'abord dans les cellules désagrégées de l'épiderme, puis dans les parenchymes palissadique et lacuneux où il demeure toujours *intercellulaire*. Les plus fortes densités mycéliennes internes se rencontrent au niveau des taches d'été et dans leur zone marginale, elles décroissent au fur et à mesure qu'on s'en écarte. Le mycélium présente un remarquable polymorphisme à l'intérieur du mésophylle, où il se ramifie très peu. La localisation des périthèces se découvre nettement en coupes transversales. Subsuperficiels ou parfois complètement internes, ils communiquent avec l'extérieur par leur ostiole. Dimensions : 160-200 μ (col compris) × 127-176 μ. L'ascothécium comprend une ou deux séries de cellules brunes à membrane extérieure très épaisse.

Le contenu interne comprend, comme pour *V. inaequalis*, des hyphes ascogènes et des asques avec leurs ascospores. Il existe une différence remarquable dans la disposition des ascospores des deux espèces dans leur double sac, c'est en effet la petite cellule de l'ascospore qui se tourne toujours vers la base de l'asque. Dimensions des asques : 60-100 μ × 8-12 μ, et des acospores : 16-19 μ × 6-7 μ.

Etude biologique

I. — Évolution de la forme saprophytique.

L'étude biologique des *Venturia* comprend une étude de la progression interne du mycélium à partir du stroma subcuticulaire d'été, la formation, le développement et la maturation des périthèces, la libération et la germination des ascospores.

1° *Progression du mycélium en profondeur.*

Quelques jours seulement après la chute de la feuille, au début de sa phase saprophytique, le champignon entre à l'intérieur du mésophylle, soit à partir des stromas subcuticulaires d'été, soit à partir des hyphes isolés. Ce mycélium végétatif utilise les intervalles intercellulaires, cependant les cellules épidermiques, qui se dégradent rapidement, sont envahies très fréquemment. A l'intérieur de la feuille morte, les hyphes des deux *Venturia* conservent l'allure mycélienne typique.

La pénétration interne du mycélium est influencée par les facteurs externes et principalement par l'humidité. Sans humidité, on ne constate aucune progression du mycélium qui demeure strictement subcuticulaire. Mais une très faible quantité d'eau suffit, tandis qu'une humidité permanente semble nuisible. L'optimum est obtenu par des alternatives d'umidité franche et de sécheresse à intervalles peu éloignés.

La température agit peu sur le développement interne des champignons, cependant les températures trop basses (au-dessous de + 5°) et trop élevées (au-dessus de + 15°) inhibent le développement des hyphes internes. La lumière ne joue aucun rôle.

Les deux *Venturia* se comportent d'une façon identique concernant la progression du mycélium en profondeur.

2° *Les périthèces jeunes.*

La formation des périthèces des deux *Venturia* débute d'une façon générale en automne, dès le mois de septembre. Elle se poursuit pendant tout l'hiver, s'échelonnant ainsi sur plusieurs mois. Elle dépend essentiellement *de la date de chute de la feuille* et de la *pluviosité*.

Mode de formation. — Les périthèces ont leur origine dans la différenciation et le développement d'un *procarpe* qui s'individualise sur le trajet d'hyphes végétatifs normaux. Le procarpe est un filament court et épais dont la segmentation amène la formation de grosses cellules disposées en file, de 8 à 12 μ de diamètre. La dernière cellule commence une série de divisions qui engendrent un petit tubercule, un nœud plectenchymateux de 20-30 μ de diamètre. A ce moment, la cellule située à la base de ce jeune conceptacle prolifère rapidement et donne les filaments recouvrants dont l'ensemble constitue l'ascothécium.

Lorsque la prolifération de ces cellules externes a amené le recouvrement complet du jeune tubercule, on peut considérer que le périthèce est né, son diamètre varie de 30 à 45 μ.

Ce jeune conceptacle, formé sous la cuticule ou dans la profondeur du mésophylle, se développe rapidement si les conditions extérieures lui sont favorables. Les cellules internes

continuent activement leurs divisions, le diamètre du périthèce continue d'augmenter pour atteindre 80-100 µ. Au cours de cette évolution, le périthèce se pourvoit d'un col et d'un ostiole qui le mettent en relation avec l'extérieur. L'organe atteint à ce moment son complet développement.

Causes qui agissent sur la formation et sur le développement des périthèces:

Humidité. — Le manque total d'eau constitue le seul cas inhibiteur pour lequel on ne constate aucune formation périthéciale. Par contre, l'humidité de l'atmosphère suffit ; la quantité d'eau reçue par les feuilles a peu d'importance sur la formation des péritèces, elle agit seulement sur la vitesse de leur développement.

Température. — Les périthèces se forment et se développent à des températures basses, sans doute au-dessous de + 4° et à des températures élevées, au moins à + 20°. L'optimum, qui permet le plus de rapidité dans leur formation et leur évolution, se situe entre 8° et 10°.

Lumière. — La lumière n'agit en aucune façon sur la formation ou le développement des périthèces ; par contre, elle intervient sur leur localisation ; ils sont toujours plus nombreux sur la face de la feuille exposée à la lumière (3 périthèces sur la face éclairée pour 1 sur la face à l'obscurité).

La formation des périthèces puis leur développement est identique pour les deux espèces de *Venturia*, on y relève seulement quelques différences de détail ayant peu d'importance et qui n'affectent nullement le sens général de cette ontogénie).

3° *Les périthèces adultes.*

Evolution du contenu interne. — A partir du tubercule initial de 40 µ de diamètre environ, l'évolution du périthèce comprend la multiplication puis la résorption des cellules internes, la différenciation de l'appareil ascogène et la formation des asques, la maturation des ascospores.

Les cellules internes se multiplient et amènent la formation d'un réseau de grosses cellules à disposition isodiamétrique, aux membranes fines. A la base du périthèce, quelques cellules régulières gardent des dimensions plus réduites. Puis ces cellules internes, en commençant par les plus proches du col, s'arrondissent, s'ovalisent, s'amenuisent, se transforment en petits éléments filiformes qui, eux-mêmes, se segmentent et se désagrègent. En fin de compte, le périthèce ne contient plus qu'une masse de gelée et quelques petites cellules situées à sa base. A ce moment, des paraphyses simples naissent des parois internes et remplissent toute la cavité interne.

L'appareil ascogène. — Les petites cellules de la base du périthèce semblent avoir la valeur de cellules ascogoniales qui donnent naissance aux hyphes ascogènes, filaments courts et fins, générateurs d'asques. Au moment où les ascospores se forment dans l'asque, on voit apparaître sur le col les soies (2 à 6) brunes caractéristiques du genre *Venturia*. Les paraphyses disparaissent avant la maturité du périthèce, elles constituent des éléments fugaces.

Causes qui agissent sur la maturation des périthèces.

Action de l'humidité. — L'eau est indispensable à la maturation des périthèces. Mais ce qui importe, ce n'est pas la somme des hauteurs d'eau, mais la *périodicité des pluies*. Les alternatives de pluie et de sécheresse, à intervalles d'une huitaine de jours, paraissent les plus favorables.

Action de la température. — L'influence de la température reste toujours faible, elle ne prend jamais le caractère d'un élément déterminant. Il existe plutôt une action combinée de l'humidité et des températures, le facteur capital restant la périodicité des pluies.

Action de la variété. — La variété de pommier et de poirier n'intervient pas dans la marche du développement saprophytique des *Venturia* et en particulier dans la maturité des périthèces.

Action de la date de chute de la feuille. — On constate une avance dans la maturité des périthèces chez les feuilles les premières tombées, mais cette avance n'est jamais importante par rapport aux grandes différences entre les dates de chute des feuilles.

II. — Caractères biologiques des parasites.

1° *Libération des ascospores*

Les observations ont été faites à la fois dans la nature et au laboratoire. La libération des ascospores commence au tout début du printemps — le 16 mars en 1948 — et se continue jusqu'à l'été — 25 juillet en 1945 - - 10 juillet en 1947. Les ascospores constituent une menace pour les pommiers et les poiriers pendant plus de 3 mois. Les plus importantes projections sont constatées dans la deuxième quinzaine d'avril et la première de mai.

L'eau est indispensable pour déclencher la projection des ascospores qui se trouve par conséquent sus la dépendance stricte de la pluviosité. La rosée ne suffit pas. La température ne semble pas intervenir sur le seuil de la projection.

La hauteur de projection n'a pas dépassé 1 cm. ; le vent doit intervenir, en conséquence, pour assurer la contamination

des organes réceptifs des pommiers et des poiriers. La projection peut durer, dans les conditions favorables, pendant 24 heures après la fin de la pluie qui l'a provoquée. La quantité de spores projetées est considérable.

Pour 0,25 cm² de surface foliaire, les chiffres les plus élevés sont :

Pour *V. pirina :* 7.000 à 8.000 spores ;

Pour *V. inaequalis :* 4.000 à 5.000 spores.

Ces innombrables spores germent dans la proportion de 80 à 100 % si elles sont placées dans des conditions favorables d'humidité et de température.

2° *Germination des ascospores*

Mode de germination.

Les deux loges des ascospores des deux *Venturia* sont fertiles ; chacune peut émettre un ou deux (parfois trois) tubes germinatifs. Mais la germination n'est pas simultanée pour les deux cellules ; dans la très grande majorité des cas, la grande cellule germe d'abord. Les tubes germinatifs sont émis par la partie basilaire ou subbasilaire pour la cellule inférieure et par la partie terminale ou subterminale pour la cellule supérieure ; les germinations ventrales sont moins fréquentes. (Rappelons que les germinations des conidies de ces deux espèces se présentent différemment : elles sont subbasilaires pour les conidies de *Fusicladium pirinum* et terminales ou subterminales pour les conidies de *Fusicladium dendriticum*).

Influences des différents facteurs sur la germination.

L'humidité. — Influence primordiale. En milieu sec aucune germination n'a lieu.

La température. — Les ascospores de *V. inaequalis* ont germé entre + 1° et + 32°, celles de *V. pirina* entre + 2° et 35°. A + 5° et + 30° la germination débute très lentement. Entre + 10° et + 25°, elle se fait très rapidement et intéresse un pourcentage très élevé d'ascospores.

A 20°, 60 % des ascospores de *V. inaequalis* germent au bout de 6 heures, 95 % au bout de 12 heures (optimum pour *V. inaequalis :* 18-20°).

A 15°, 50 % des ascospores de *V. pirina* germent au bout de 6 heures, 95 % au bout de 12 heures (optimum pour *V. pirina :* 15-17°).

La lumière. n'a aucune influence sur la germination des ascospores des *Venturia.*

Culture en milieux artificiels

Milieux de cultures :
Liquides : eau de pluie stérile, eau distillée stérile, glucose à 2 %.

Solides : Sabouraud épreuve (4 % de glucose), Gélose sucrée ordinaire, Glucosé 2 % gélosé.

L'étude de la germination des ascospores et du développement mycélien dans ces différents milieux a permis d'établir d'utiles comparaisons avec ce qui se passe dans les conditions naturelles, de montrer le polymorphisme accentué de ces champignons, et de déterminer l'emplacement exact des conidiophores sur le trajet des hyphes.

La formation des conidies commence pour *V. inaequalis* sur Sabouraud maintenu à 15° au bout du neuvième jour, et pour *V. pirina* sur gélose sucrée ordinaire à partir du onzième jour.

Les conidiophores de *V. pirina* se développent principalement sur le trajet des hyphes végétatifs ou à l'extrémité des filaments terminaux ; ceux de *V. inaequalis* sont plus fréquents à l'extrémité distale des hyphes où ils constituent des groupes parfois denses sur les prolongements des palmettes multilobées de cordons. La sporulation a pour conséquence une élongation des conidiophores qui est autopodiale pour *V. inaequalis* et sympodiale pour *V. pirina*.

3° *Infections artificielles par les ascospores*

Les infections par les ascospores, réalisées sur de jeunes plants issus de semis, élevés sous serre, puis sous cloche, ont démontré la similitude avec les infections par les conidies. L'hyphe infectant pénètre directement dans la cuticule après s'être fixé par un appressorium. L'hyphe primaire progresse peu à la surface des cellules épidermiques ; il se ramifie pour former des cordons chez *V. inaequalis* et des réseaux irréguliers chez *V. pirina*. L'extériorisation de la marche subcuticulaire du mycélium qui se traduit par l'apparition des taches conidiennes, se fait après un temps plus ou moins long, suivant l'âge de l'organe infecté et les conditions atmosphériques. L'éclosion peut se produire à partir de 12 jours sur les feuilles de pommier et de 16 jours sur les feuilles de poirier.

Cycle des parasites

En plus de cette étude de la forme complète de ces deux espèces, je me suis préoccupé de leur forme conidienne *qui est permanente*. A toute époque de l'année, les conidiophores sont en activité : soit, pendant la période végétative des arbres, sur

tous les organes, rameaux, feuilles, fleurs, fruits ; soit, pendant le repos hivernal, dans les pustules des rameaux ou sur les écailles des bourgeons. Les pustules conidifères, particulièrement nombreuses sur rameaux de poirier, s'ouvrent dans notre région de l'Ouest dès le mois de janvier, à une époque où les taches conidiennes d'été possèdent encore des conidies viables.

Il convient cependant de faire remarquer que les *pustules conidifères sur rameaux de pommier et sur les écailles de bourgeons sont rares*. Pour cette espèce, le rôle des ascospores dans les infections primaires revêt par conséquent une importance beaucoup plus grande que pour le poirier. La thérapeutique à suivre pour lutter efficacement contre la tavelure du pommier et du poirier doit être basée sur la connaissance de la forme conidienne et de la forme ascosporée. Dès le mois de janvier et surtout en février et mars les pustules conidifères s'ouvrent sur les rameaux. Un et même deux traitements énergiques doivent être exécutés à cette époque avec une bouillie cuprique forte. Ensuite, à partir de la fin mars, les ascospores constituent un nouveau danger après chaque pluie et principalement pour le pommier. Il conviendra donc, depuis la chute des pétales et pendant tout le printemps, de faire autant de traitements que les conditions atmosphériques l'exigeront, avec une bouillie cuprique plus faible pour éviter les brûlures.

En plus de ces traitements, des précautions spéciales seront prises pour limiter la formation des pustules conidifères sur rameaux et le développement des périthèces dans les feuilles mortes. Pour cela :

— Tailler de bonne heure (avant l'ouverture des pustules) et détruire les rameaux coupés ;

— Eviter de greffer des rameaux tavelés (sur les greffons prélevés en janvier et mis en jauge, les pustules continuent leur évolution, mais s'ouvrent un peu plus tardivement) ;

— Eviter de prélever des bourgeons sur rameaux tavelés lors des écussonnages ;

— Ramasser les feuilles mortes dans la mesure du possible ;

— Tenir compte de la sensibilité des variétés lors des plantations. Les emplacements exposés à l'humidité seront réservés aux variétés les moins sensibles à la tavelure.

BIBLIOGRAPHIE

1894. Aderhold. — Die Périthécien Form von *Fusicladium dendriticum* . *Venturia chlorospora* karst var. Mali Aderhold. (*Bericht deutsch bot. Gesellsch*, XII, p. 338-342).

1931. Arnaud (G). — Traité de Pathologie végétale.

1944. Chadefaud (M.). — Biologie des champignons.

1922. Curtiss (Miss). — Black spot of apple and pear (*New-Zealand, Journ. of. Agr.*, XXVIII, p. 21-28).
— Ascospores ejection of the apple and pear black spot fungi. (*New-Zealand, Journal of science and techn.* V. p. 83-90).

1943. Darpoux. — Tavelure du pommier et du poirier. (*Annales des Epiphyties*, tome II, 1943).

1916. Delacroix et Maublanc. — Maladies des plantes cultivées (maladies parasitaires).

1907. Ducomet. — Recherches sur le développement de quelques champignons parasites à thalle subcuticulaire. (Thèse).

1917. Fraser. — Sur l'hivernage de *V. inaequalis* au Canada. (*Science*, XLVI, p. 280-282).

1939. Gaudineau (M.), Raucourt (M) et Morel (G.). — Observations sur la forme parfaite de *V. inaequalis* et de *V. pirina* (*Revue de pathologie végétale et d'entomologie agricole de France*, tome 26, n° 2).

1945. Guyomard (L.). — Sur le mode de contamination du poirier par les conidies de *Venturia pirina* Aderhold. (Communication Acad. des sc., juin 1945).

1939. Holz (W.). — Der Einfluss der Märztemperaturen uf die Geschwindigkeit des Reifungsvorganges von *Venturia inaequalis* Perithezien (Angew. Bot.).

1937-38. Houlbert. — Tavelure du poirier. (*Bulletin des Sciences pharmacologiques*, tomes 44 et 45).

1926. Howitt et Evans. — Preliminary report of Some observations on ascospore dischargé and dispersal of conidia of *Venturia inaequalis* (*Phytopathology*, 16,8).

1928. Jehle and Hunter. — Observations on the discharge of ascospores of *V. inaequais* in Maryland (*Phytopathology*, XVIII, p. 943-945).

1914. Jones. — Perithecia in cultures of *V. ineaqualis* (*Phytopathology*, p. 52).

1938. Kay (Mc). — Conidia from infected bud scales and adjacent wood as a main source of primary infection with the apple scab fungus *V. inaequalis* (*Sc. Proc. Roy. Dublin soc.*, n° 21).

1925. Keitt and Jones. — Fréquencies of ascospores of *V. inaequalis* in orchand air (*Phytopathology*, p. 57).

1937. Keitt and Palmiter. — Heterothallism in *Venturia inaequalis* (*Science*, 85, p. 498).

1917. Killian. — Ueber die sexualität von *Venturia inaequalis* (Cooke), Ad. *Zeitschr f. Bot.*, IX, 353-398).

1942. Lutz (L.). — Traité de cryptogamie.

1937. Maublanc. — Tavelure des arbres fruitiers (*Journées de lutte chimique contre les ennemis des cultures*).

1934. Palmiter. — Variabilité des cultures monospermes de *Venturia inaequalis* (*Phytopathology*, XXV, I, p. 22-47).

1882. Saccardo. — Sylloge fungorum, I, p. 587.

1944. Saccas (A.). — Etude morphologique et biologique des Fusicladium des Rosacées (Thèse d'Ingénieur-Docteur).

1924. Salmon and Ware. — Apple and pear scab (*Journ. Minist. Agr. London*, XXXI, n° 6).

1943. Schad. — Possibilité d'organiser un service d'avertissements contre la Tavelure du pommier et du poirier (*Annales des épiphyties*, tome IX, fascicule I).

1938. Schad et Soulie. — Note sur la recherche des périthèces des tavleures du pommier et du poirier dans la région du centre en 1938. (*Revue de pathologie végétale et d'entomologie agricole*, tome XXVI).

1925. Schneiderhan. — Rainfall in relation to ascospore discharge and infection in *V. inaequalis* (*Phytopathology*, p. 56).

1928. Wilson. — Studies of the ascigerous stage of *V. inaequalis* (Cooke). Winter in relation to certain factors of the environnant (*Phytopathology*, XVIII, p. 375, 418).

TABLE DES MATIÈRES

Historique 5
Techniques 9

ETUDE MORPHOLOGIQUE

I. - CARACTÈRES MACROSCOPIQUES 15
1. SUR FEUILLES DE POMMIER 15
a) Forme conidienne 15
b) Les périthèces 17
2. SUR FEUILLES DE POIRIER 19
a) Forme conidienne 19
b) Les périthèces 20

II. - CARACTÈRES MICROSCOPIQUES 23
1. LE MYCÉLIUM 23
A. **V. inaequalis** 23
a) Coupes tangentielles 23
b) Coupes transversales 28
B. **V. pirina** 33
a) Coupes tangentielles 33
b) Coupes transversales 36
2. LES PÉRITHÈCES 42
A. **V. inaequalis** 42
a) Coupes tangentielles 42
b) Coupes transversales 46
B. **V. pirina** 53
a) Coupes tangentielles 53
b) Coupes transversales 55

ETUDE BIOLOGIQUE

. - EVOLUTION DE LA FORME SAPROPHYTIQUE 65
1. PROGRESSION DU MYCÉLIUM EN PROFONDEUR 65
A. **V. inaequalis** 65
a) Le stroma subcuticulaire d'été 65
b) Le mycélium interne 70
c) Influence des facteurs du milieu sur la progression du mycélium 75
Action de l'humidité 75
Action de la température 79
Action de la lumière 82

B. **V. pirina** 82
a) Le stroma subcuticulaire d'été 82
b) Le mycélium interne 87
c) Influence des facteurs du milieu sur la progression du mycélium 90
Action de l'humidité 90
Action de la température 93
Action de la lumière 95

2. **LES PÉRITHÈCES JEUNES** 97
A. **V. inaequalis** 97
a) Dates de formation 97
b) Mode de formation 98
c) Développement du jeune périthèce 101
d) Influence des facteurs du milieu sur la formation et le développement des périthèces 102
Action de l'humidité 102
Action de la température 103
Action de la lumière 104
B. **V. pirina** 106
a) Dates de formation 106
b) Mode de formation 107
c) Développement du jeune périthèce 109
d) Influence des facteurs du milieu sur la formation et le développement des périthèces 110
Action de l'humidité 110
Action de la température 112
Action de la lumière 112

3. **LES PÉRITHÈCES ADULTES** 115
A. **V. inaequalis** 115
a) L'appareil ascogène. Les asques 116
b) Les ascospores 117
B. **V. pirina** 119
a) L'appareil ascogène. Les asques 119
b) Les ascopores 122
c) Déhiscence de l'asque 122
C. **Influence des facteurs du milieu sur la maturation des périthèces des deux Venturia** 124
1° Action de l'humidité 125
2° Action de la température 127
3° Influence de la variété 128
4° Influence de la date de chute de la feuille 128

II. - CARACTÈRES BIOLOGIQUES DES PARASITES 130
1. **LIBÉRATION DES ASCOSPORES** 130
A. **Dans la nature** 131
1° Dates et importance des projections 131
2° Causes qui agissent sur les projections 136
B. **Au laboratoire** 137
1° Influence de la quantité d'eau 137
2° Influence de la température 138
3° Hauteur de la projection 138

4° Durée de la projection 138
5° Quantité de spores projetées 139
6° Les périthèces après la projection 140

2. GERMINATION DES ASCOSPORES 141

A. **V. inaequalis** 141

a) Sur milieux liquides 141
b) Sur milieux solides 143
c) Mode de germination 147
d) Influence des facteurs du milieu sur la germination des ascospores 149
e) Le mycélium en cultures pures 155
f) La sporulation 157

B. **V. pirina** 161

a) Sur milieux liquides 161
b) Sur milieux solides 162
c) Mode de germination 167
d) Influence des facteurs du milieu sur la germination des ascospores 169
e) Le mycélium en cultures pures 174
f) La sporulation 177

3. INFECTIONS ARTIFICIELLES PAR LES ASCOSPORES. 179

A. **V. inaequalis** 179

B. **V. pirina** 182

CYCLE DES PARASITES DANS LA NATURE

A. **V. inaequalis** 187
a) Forme conidienne 187
1° d'été 187
2° d'hiver 188
b) Forme ascosporée 189

B. **V. pirina** 189
a) Forme conidienne 189
1° d'été 189
2° d'hiver 190
b) Forme ascosporée 192

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Etude morphologique 193
Etude biologique 195
Cycle des parasites 200
Bibliographie 203

Dépôt légal n° 3 — 1er Trimestre 1949

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

Réceptivité du Pommier et du Poirier à la Tavelure

Vu et approuvé,
TOULOUSE, le 24 Décembre 1948.
Le Doyen de la Faculté des Sciences,
G. DUPOUY.

Vu et permis d'imprimer,
TOULOUSE, le 27 Décembre 1948.
Le Recteur de l'Académie,
P. DOTTIN